

THESE

présentée

A L'UNIVERSITE DE NANCY I

pour l'obtention du grade de

DOCTEUR ès SCIENCES PHYSIQUES

par

FRANÇOIS COLONNA-CESARI

ETUDES PAR DIFFRACTION DES RAYONS X ET ANALYSE CONFORMATIONNELLE
DE QUELQUES POLYPEPTIDES MODELES

soutenue le 29 Avril 1975 devant la Commission d'Examen

Président	M. J. NEEL
Examineurs	MM. P. HORN B. LOTZ R. MAINARD S. PREMILAT G. SPACH



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555415_0020



Ce travail a été effectué dans le laboratoire du Professeur P. HORN, qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude.

Je suis profondément reconnaissant à B. LOTZ de m'avoir offert sa fructueuse collaboration tout au long de ce travail et d'avoir bien voulu examiner cette thèse.

Je remercie vivement S. PREMILAT, Maître de Conférences, de m'avoir initié au calcul conformationnel et d'avoir suivi quotidiennement ce travail.

Je sais gré à Monsieur le Professeur J. NEEL de l'intérêt qu'il a manifesté pour ce travail ainsi que de ses conseils.

Je remercie chaleureusement Monsieur G. SPACH, Directeur de Recherche, d'avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur A. SKOULIOS, Directeur de Recherche, pour l'attention qu'il a toujours manifesté pour mon travail ainsi que pour ses conseils.

Que Monsieur le Professeur R. MAINARD reçoive mes chaleureux remerciements pour avoir bien voulu examiner cette thèse.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame E. DELLACHERIE et à Monsieur M. MARRAUD pour leurs conseils et l'aide qu'ils m'ont offerts.

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du laboratoire pour l'aide amicale qu'ils m'ont prodiguée. Je suis en particulier reconnaissant à Monsieur M. GRECO pour son assistance technique.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	2
--------------	---

CHAPITRE I - GENERALITES SUR LES TECHNIQUES UTILISEES

A - Diffraction des rayons X par des fibres orientées	7
I. Préparation des échantillons	7
II. Dispositif expérimental	9
III. Mesure des intensités	10
IV. Diffraction des rayons X par des fibres hélicoïdales	10
IV. 1) Expression du facteur de structure	10
IV. 2) Détermination des paramètres géométriques d'une hélice à partir du cliché de diffraction	12
IV. 3) Expression de l'intensité	12
IV. 4) Facteur de corrélation ρ	18
B - Les fonctions potentielles empiriques	19
I. Energie de van der Waals ou d'interaction entre atomes non liés	20
I. 1) Les potentiels en 6-12	20
I. 2) Les potentiels en 6-exponentielle	22
II. La liaison hydrogène	23
III. Energie électrostatique	24
IV. Energie de torsion	25
V. Energies de déformation	26
C - Construction de modèles de cristaux de polypeptides et calcul de leur énergie de conformation	27
I. Construction d'une chaîne de polypeptide	27
II. Méthode générale de construction d'une hélice dans son système d'axes. Variables du problème	28
III. Construction des feuillets d'hélice 2 ₁	30

IV. Construction du Réseau	33
V. Empilement de feuillets plissés de symétrie binaire constitués de chaînes antiparallèles	34
VI. Méthode de calcul de l'énergie dans un réseau de feuillets	36
VII. Méthodes de minimisation utilisées	38
VII. 1) Méthodes sans calcul du gradient	38
VII. 2) Méthodes avec gradient	39

CHAPITRE II - ANALYSE CONFORMATIONNELLE DE STRUCTURES MODELES DE POLYPEPTIDES
--

A - Etude de quelques modèles hélicoïdaux de polypeptides alternés L, D	41
I. Introduction	41
II. Modèles envisagés et mode de calcul	43
III. Résultats	45
IV. Discussion et Conclusion	45
B - Etude conformationnelle de modèles en feuillet de polypeptides	47
I. Analyse de la structure du cristal de polyglycine I	47
I. 1) Modèle en feuillets ridés	49
I. 2) Modèle en feuillets plissés	50
I. 3) Conclusion	52
II. Analyse de la structure du cristal de poly-L-alanine en feuillets plissés	52
II. 1) Conduite des calculs	54
II. 2) Résultats	54
II. 3) Conclusion	60
III. Analyse conformationnelle de la structure du cristal de poly-L-alanine-glycine β	61
III. 1) Description du modèle	61
III. 2) Position du problème	62
III. 3) Résultats	62

III. 4) Discussion des résultats	64
III. 4-1) Origine des distances interfeuilletts	64
III. 4-2) Discussion des deux modèles de Fraser	65
III. 4-3) Possibilité de désordre	67
III. 4-4) Corrélation avec la structure de la soie du Bombyx Mori	68
III. 5) Conclusion	68
IV. Analyse conformationnelle du modèle en feuilletts "β contracté" de la poly(L-alanine-glycine) ou poly(L-alanine-glycine) II	69
IV. 1) Introduction	69
IV. 2) Description des modèles	70
IV. 2-1) La chaîne polypeptidique	70
IV. 2-2) Les feuilletts	71
IV. 2-3) Les réseaux	73
IV. 3) Résultats	73
IV. 4) Discussion des résultats et conclusion	76

CHAPITRE III - RAFFINEMENT D'UNE STRUCTURE DE POLYPEPTIDE : ETUDE DE L'HELICE α DE LA POLY-L-METHIONINE
--

I. Introduction	81
II. Résultats cristallographiques	84
II. 1) La maille	84
II. 2) La réflexion méridienne (0,0,16)	84
II. 3) Essai de localisation de l'atome de soufre	86
II. 4) Affinement de l'accord entre les intensités calculées et observées	86
III. Analyse conformationnelle	88
III. 1) Modèle utilisé pour le calcul énergétique	89
III. 2) Résultats du calcul énergétique	92
III. 3) Raffinement couplé de l'énergie du cristal E et du facteur de corrélation ρ	94
IV. Conclusion	98
CONCLUSION GENERALE	100
ANNEXES : Annexe 1	104
Annexe 2	108
BIBLIOGRAPHIE	111

INDEX DES FIGURES

Figure	1	page	11
	2		13
	3		15
	4		28
	5		28
	6		31
	7		31
	8		33
	9		34
	9 bis		35
	10		34
	11		34
	12		34
	13		42
	14		42
	15		48
	15 bis		48
	16		48
	17		53
	18		55

Figure	19	page	56
	20		57
	21		58
	22		61
	23		67
	24		70
	25		72
	26		72
	27		78
	28		81
	29		83
	30		83
	31		83
	32		83
	33		90
	34		90
	35		90
	36		90
	37		96

INDEX DES TABLEAUX

Tableau	1	page	21
	2		23
	3		25
	4		44
	5		49
	6		50
	7		51
	8		53
	9		59
	10		63
	11		66
	12		75
	13		85
	14		92
	15		93
	16		95
	17		97

INTRODUCTION

"Calculations of this nature, being mainly empirical in basis and approximate in numerical results, should be treated with circumspection. They cannot be regarded as being accurate in detail".

P. J. FLORY

Les polypeptides synthétiques ont été intensivement étudiés ces dernières années, car ils peuvent être considérés comme des modèles simplifiés de produits naturels plus complexes comme les protéines. Pour entreprendre l'étude de leur structure nous disposons de trois types de méthodes : les méthodes d'analyse physico-chimique en solution (absorption infra-rouge et u.v., R.M.N., dichroïsme circulaire, diffusion de la lumière et des rayons X, viscosité, ultracentrifugation, etc...), la diffraction des rayons X et l'analyse conformationnelle. Les études en solution ont l'inconvénient de ne donner que des informations partielles et souvent difficile à analyser. La diffraction des rayons X, lorsque l'on dispose de cristaux de bonne qualité, constitue la méthode d'analyse structurale idéale : les résultats obtenus par cette méthode sur les protéines globulaires en attestent. Seulement, dans le cas des polypeptides de synthèses ou des protéines fibreuses, il est impossible d'obtenir des échantillons présentant un degré de cristallinité suffisant. Les rayons X perdent alors leur principal avantage et ne permettent bien souvent que d'accéder à la maille cristalline. Il a donc fallu très vite recourir à la construction de modèles pour poursuivre l'analyse structurale. Parallèlement, la mise à la disposition des chercheurs de puissants ordinateurs, a permis de remplacer les modèles en "fil de fer" par l'analyse conformationnelle. Cette

méthode qui consiste à calculer l'énergie d'interactions interatomiques se divise elle-même en deux types d'approche : les méthodes quantiques qui sont d'un fondement plus rigoureux mais qui ne permettent pas de traiter des systèmes contenant plus d'une centaine d'atomes et les méthodes dites "empiriques" utilisant, pour décrire les interactions interatomiques, des fonctions potentielles dont la formulation mathématique simplifiée permet de traiter des systèmes comportant des milliers d'atomes. Ces dernières méthodes sont donc les seules aptes à traiter les problèmes de conformation de polypeptides. Cependant, ces fonctions potentielles empiriques dont la forme analytique diffère selon les auteurs et qui reposent sur une partition plus ou moins arbitraire de l'énergie d'interaction interatomique est un sujet de suspicion tant pour nombre d'expérimentateurs que pour les théoriciens. Flory, lui-même, bien qu'il soit l'un des fondateurs de cette méthode d'analyse, émet à son sujet un jugement particulièrement pessimiste. Il peut donc apparaître téméraire d'utiliser un matériel d'analyse aussi douteux.

En fait, toute la clé du problème réside dans le choix de l'objet et du propos de telles analyses. Les polypeptides modèles sont à cet égard un matériel de choix. En effet, par leur nature même, chaque type de liaison covalente qui les constitue est suffisamment bien défini pour que sa longueur et les angles de valence puissent être standardisés. Il s'en suit qu'un polypeptide peut être représenté valablement comme une chaîne de segments consécutifs rigides, articulés sur des cônes de valence. Si l'on ajoute à cela la planarité du groupe peptide et des conditions de stéréorégularité (hélices) le nombre de paramètres déterminant la conformation d'un stéréopolypeptide devient très limité.

Il n'est donc pas étonnant que le modèle élémentaire de représentation des atomes par des "sphères dures" ait pu permettre à Pauling de découvrir l'hélice α et les structures en feuillets des polypeptides. Si, pour affiner ce modèle, nous considérons que ces atomes sphériques sont chargés et interagissent suivant des lois simples du type Lennard-

Jones, nous possédons alors un outil capable de quantifier la stabilité d'une conformation par le calcul des énergies d'interaction.

L'analyse conformationnelle, fondée sur l'utilisation de fonctions potentielles empiriques, aura donc pour objet essentiel de comparer la stabilité de différentes conformations ou, ce qui revient au même, d'aider à la détermination des paramètres conformationnels qui minimisent l'énergie des interactions interatomiques.

C'est ainsi que le premier travail que nous présentons a pour but de comparer plusieurs modèles de conformations hélicoïdales pour trois copolypeptides régulièrement alternés (D,L). Ce premier exemple montrera bien les limites de la méthode dues aux imprécisions des fonctions utilisées, mais permettra de tirer des conclusions quant à l'origine de la structure de la Gramicidine A.

Dans les études suivantes, portant sur des structures en feuillets de polypeptides à chaînes courtes, constitués de glycine et d'alanine, des données cristallographiques élémentaires (maille) existent. Nous montrons que l'introduction de ces faibles données expérimentales permet non seulement de confirmer des modèles jusque là hypothétiques mais encore de proposer avec une bonne précision des coordonnées atomiques. C'est ce que nous avons réalisé avec la polyglycine I et les deux copolypeptides (L-alanine-glycine)_n modèles de la protéine de la soie du Bombyx Mori.

Comme nous l'avons déjà souligné, les données de rayons X, même les meilleures, sont limitées par la médiocre cristallinité de ces composés. C'est ainsi que dans un des cas les plus favorables (diffraction par une fibre d'hélices α) on obtient une information relativement abondante en regard des cas précédents mais insuffisante pour la détermination de la conformation des chaînes latérales. L'utilisation conjointe de l'analyse conformationnelle et d'une fonction mesurant l'accord entre le spectre de diffraction calculé et observé dans un même processus d'affinement permet de résoudre ce problème. C'est le propos de notre dernière étude portant sur des fibres de poly(L-méthionine) en hélice α .

C O N V E N T I O N S

- Nomenclatures des acides aminés :

Ala	Alanine
Gly	Glycine
Met	Méthionine
Ser	Sérine
Val	Valine

- Angles de torsions :

Nous avons utilisé les conventions de l'IUPAC (1970)
(J. Mol. Biol. (1970), 52, 1)

$\varphi = \psi = \omega = 180^\circ$ pour la chaîne étendue
 $\chi_1 = 180^\circ$ pour la position trans
sur la chaîne latérale.

CHAPITRE I - GENERALITES SUR LES TECHNIQUES UTILISEES

A - DIFFRACTION DES RAYONS X PAR DES FIBRES ORIENTÉES

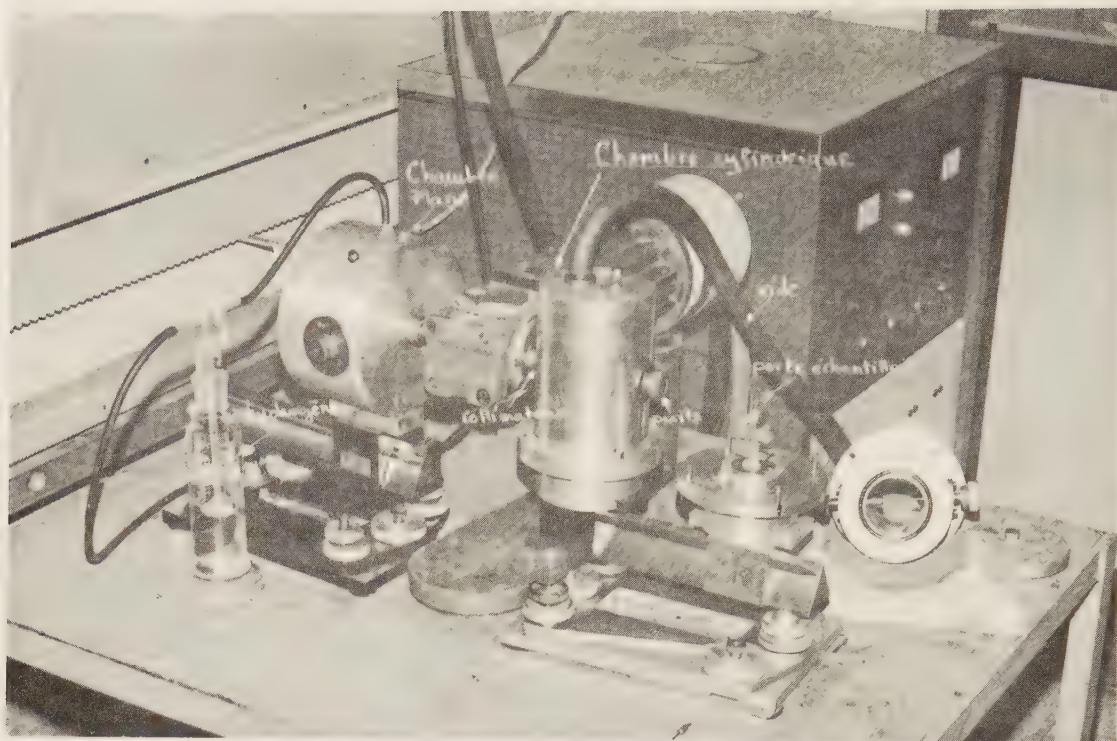
I. Préparation des échantillons

On obtient des fibres orientées de polypeptides à partir d'une solution concentrée dans un solvant assez volatil (chloroforme, ou hexafluoroisopropanol), parfois une légère addition d'acide dichloracétique est nécessaire pour éviter les agrégats.

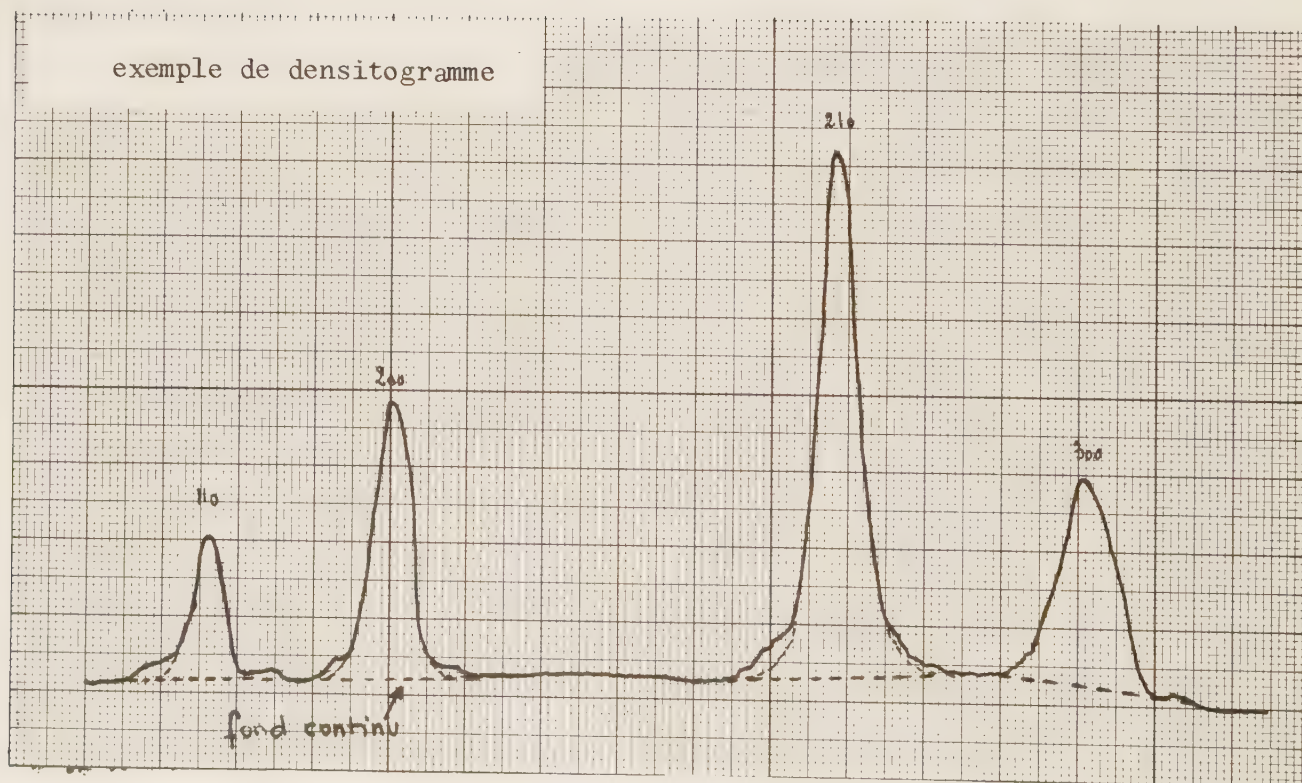
En plongeant l'extrémité d'une spatule dans la solution et en la retirant lentement, on obtient de très fins filaments de 5 à 6 μ de diamètre qui peuvent atteindre plusieurs centimètres de long. Les portions les mieux orientées de ces filaments sélectionnées à l'aide d'un microscope polarisant, sont collées avec de l'araldite sur une plaquette métallique de 2 cm de côté percée d'un trou central d'un cm de diamètre. On confectionne ainsi des paquets de fibrilles de 90 à 100 μ de diamètre. Les échantillons sont généralement recuits à 150° C sous vide pendant deux heures afin d'améliorer leur cristallinité.

On peut également obtenir de bons films orientés en étendant une goutte de gel concentré sur un cylindre de verre (tube à essai) placé dans le mandrin d'un tour. Avec une lame de verre on étale la goutte de solution qui s'oriente par viscosité lorsque l'on met le tour en marche. Des films bien orientés de 10 cm sur 2 cm sont aisément obtenus par cette méthode due à Bamford et coll. (8), leur qualité est cependant un peu inférieure à celle des fibres, et ils peuvent présenter des phénomènes de double orientation (9).

Une autre technique permet d'obtenir des films orientés d'épaisseur très faible (100 Å à 400 Å) et déterminée : la compression d'une



dispositif expérimental



couche monomoléculaire adsorbée à l'interface air-eau. Une telle méthode a été décrite par Malcolm (46), elle est particulièrement indiquée pour l'obtention d'échantillons de diffraction électronique.

Une revue des méthodes de préparation d'échantillons orientés de polymères est donnée par Fraser (29) et Elliott (24) et (25)

II. Dispositif expérimental

Les fibres biologiques ou para-biologiques comme les peptides synthétiques ont l'inconvénient de diffracter peu les rayons X (atomes légers) et de n'offrir le plus souvent que des échantillons de faible section. Les tubes à rayons X classiques ne sont donc pas adaptés à l'étude de ces composés. Pour ces études on utilise soit des tubes à micro-foyer du type Hilger ou C.G.R. qui présentent une très grande brillance associée à un faisceau de très faible angle solide, soit des tubes plus classiques à foyers fins.

Les fibres les mieux orientées, gardant une certaine désorientation d'environ 10° , les clichés présentent des arcs de diffraction au lieu de taches à la géométrie bien définie. Pour accroître la définition des clichés nous sommes obligés d'utiliser des collimateurs délimitant un angle solide très petit. Ces collimateurs sont définis par des pastilles de plomb espacées de 2 à 8 cm et percées de trous allant de 0,1 à 0,3 mm de diamètre. On utilise une anticathode au cuivre, la longueur d'onde $\text{CuK}\alpha$ est isolée à l'aide d'un filtre de nickel ($\lambda = 1,542 \text{ \AA}$).

Une série de chambres de divers type a été construite

- chambre cylindrique de 29 mm de rayon pour la mesure des intensités
- chambres planes de 1 cm à 5 cm de distance film-échantillon pour la mesure des paramètres cristallins.

Dans tous les cas le vide est fait à l'intérieur de la chambre ou bien l'air est évacué par un courant d'hydrogène.

III. Mesure des intensités

Pour couvrir toute la gamme d'intensités que présente un cliché de fibre on a utilisé la méthode des films superposés (3 films) avec des temps de pose variant de 1hr à 15 jours. Chaque développement est effectué à la température de 20° C pendant 5 mn avec un révélateur neuf, le film doit être régulièrement agité pendant la révélation afin d'éviter les inhomogénéités de développement.

Les intensités intégrées sont mesurées à l'aide d'un densitomètre. Pour chaque arc de diffraction on obtient une trace radiale ; on estime le fond continu empiriquement, puis l'on mesure au planimètre la surface comprise entre la trace du densitomètre et l'estimation du fond continu ; on obtient ainsi une valeur I_{obs} de l'intensité intégrée. Comme il y a quatre arcs par cliché correspondant à la même valeur théorique de I_{obs} , I_{obs} est en fait la moyenne des valeurs trouvées pour ces quatre mesures. Pour utiliser ces valeurs il faut leur appliquer des facteurs correctifs (Lorentz, polarisation, multiplicité, désorientation, distance film échantillon, inclinaison du faisceau), les valeurs ainsi obtenues sont directement comparables à celles du calcul théorique, on les désignera par $|F_{obs}|^2$. Les expressions de ces facteurs correctifs pour différents types de chambre ont été publiées par S. Arnott (2). On trouve également ces facteurs exposés par Bradbury et coll. (14) et Langridge (40).

IV. Diffraction des rayons X par des fibres hélicoïdales

IV. 1) Expression du facteur de structure

La théorie de la diffraction des rayons X par une hélice de polymère a été faite par Cochran, Crick et Vand en 1952 (18). Le problème a été revu en détail par Vainshtein (69). Nous ne présenterons donc, parmi les formules originales, que celles que nous avons dû utiliser pour nos problèmes.

Soit une hélice de pas P comportant u unités asymétriques en t tours et soit c la distance de répétition en projection sur l'axe, (voir figure 1).

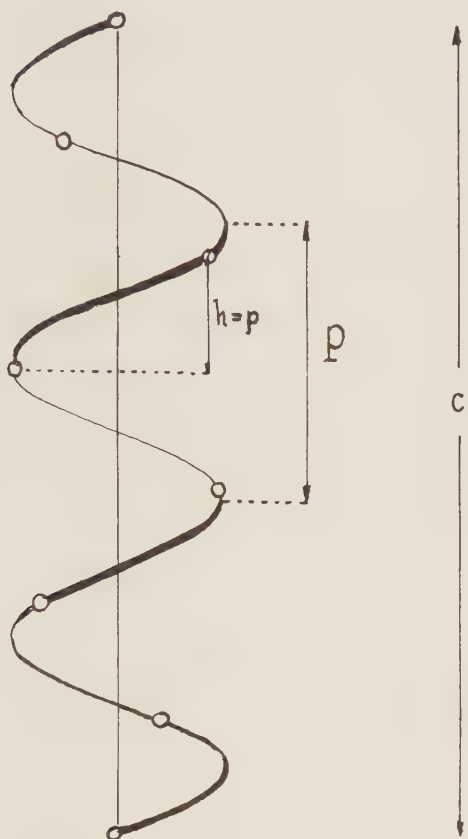


Figure 1
hélice discontinue de pas P
comportant 7 unités en 3 tours

Soit $p = c/u$ la distance en projection sur l'axe de deux atomes consécutifs équivalents, on a

$$c = pu = Pt$$

la théorie montre que le facteur de structure au point du réseau réciproque de coordonnées cylindriques $(R, \psi, l/c)$ a pour expression :

$$F(R, \psi, l/c) = \sum_n \sum_j f_j J_n(2\pi R r_j) \exp(i(n(\pi/2 - \varphi_j) + 2\pi l z_j/c)) \exp(in\psi)$$

$$\text{ou } F(R, \psi, l/c) = \sum_n (A_n + iB_n) \exp(in\psi) \quad [1]$$

f_j facteur de structure atomique

l est l'ordre de la strate

J_n est la fonction de Bessel d'ordre n

la somme sur j s'étend à tous les atomes de l'unité asymétrique de coordonnées cylindriques (r_j, φ_j, z_j)

la somme sur n entier s'étend aux solutions de l'équation arithmétique :

$$l = nt + mu \quad \text{où } m \text{ est un entier quelconque} \quad [2]$$

IV. 2) Détermination des paramètres géométriques d'une hélice à partir du cliché de diffraction - - - - -

On définit généralement une hélice par le rapport u/t (l'hélice comporte u unités asymétriques en t tours) (l'hélice α est ainsi définie par le rapport 18/5). La détermination de ces paramètres est la première chose à faire après celle de la maille ; elle peut être délicate comme dans le cas du virus de la mosaïque du tabac (38). Les relations [1] et [2] vont permettre cette détermination.

- Si l'on remarque que seules les fonctions de Bessel d'ordre zéro sont différentes de zéro pour un argument nul ($J_0(0) = 1$), la première réflexion méridienne sera donc telle que :

$$l = 0.t + 1.u \quad \text{soit} \quad l = u$$

par conséquent l'ordre de la strate sur laquelle apparaît la première réflexion méridienne donne le nombre de résidus par tour u .

- La relation [2] montre que $l = t$ pour $n = 1$ et $m = 0$. Or, $n = 1$ implique des réflexions proches du méridien très intenses. Le paramètre t sera donc défini par l'ordre de la strate comportant des réflexions quasi-méridiennes intenses.

IV. 3) Expression de l'intensité

o Cas général

Les clichés de fibres ont la particularité d'être dus à des microcristallites d'orientations quelconques par rapport à l'axe de fibre. L'intensité mesurée n'est donc que la moyenne suivant ψ de l'inten-

sité. Le réseau réciproque n'est plus formé de points mais de cercles et chaque réflexion sur le cliché est la superposition de toutes celles ayant mêmes coordonnées R et l/c , (voir figure 2).

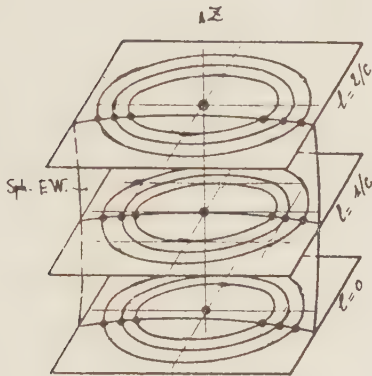


Figure 2

Intersection de la sphère d'Ewald avec le réseau réciproque d'un diagramme de fibre.

L'expression de l'intensité est alors :

$$I(R, l/c) = \langle FF^* \rangle_{\psi} = \sum_n (A_n^2 + B_n^2) \quad [3]$$

Comme pour un l donné la différence entre deux valeurs de n est u , si l'on néglige tout terme comportant des fonctions de Bessel d'ordre supérieur à 6, on n'aura plus de sommation dans [3] mais :

$$I(R, l/c) = A_n^2 + B_n^2$$

ce qui est le cas des hélices α . ($u = 18$).

o Cas d'un réseau d'hélices verticales de polarité quelconque

Les hélices de polypeptides possèdent un sens chimique (polarité) défini par la séquence $-N-C\alpha-C'$, nous appellerons ce sens, sens positif s'il coïncide avec le sens positif de l'axe $\vec{c}$ de la maille et négatif dans le cas contraire, par extension nous désignerons par "hélice positive" une hélice de sens positif et par "hélice négative" une hélice de sens négatif.

Généralement, dans les fibres cristallines de polypeptides, les axes des hélices occupent des positions bien précises aux noeuds du réseau, mais leur sens chimique est aléatoire.

En ce qui concerne la transformée de Fourier d'un tel cristal, tout se passe comme si on avait en chaque site cristallographique une hélice positive de poids statistique $\frac{1}{2}$ superposée à une hélice négative de poids statistique $\frac{1}{2}$. Cela se traduit sur les clichés par l'apparition d'une diffusion continue qui peut être très intense sur certaines strates. Ce phénomène de "Traînées" ou "streaks" a été expliqué tout d'abord par Elliott et Malcolm en 1959 (22), par la suite Vainshtein (67) a donné un exposé détaillé de ce problème théorique ; il fournit l'expression suivante pour l'intensité au point $R, \psi, l/c$:

$$I(R, \psi, l/c) = \left[\frac{1}{2}(F_+ + F_-) \right] \left[\frac{1}{2}(F_+ + F_-)^* \right] S(R, \psi, l/c) \\ + N \left[\frac{1}{2}(F_+ - F_-) \right] \left[\frac{1}{2}(F_+ - F_-)^* \right] \quad [4]$$

où F_+ et F_- sont respectivement les facteurs de structures associés à une chaîne positive et négative, définis par [1], N est le nombre de mailles dans le cristal, S la fonction de réseau. Le deuxième terme est responsable de la diffusion continue sur la strate l puisqu'il ne contient pas le terme $S(R, \psi, l/c)$. Pour notre part, nous n'avons pas tenu compte de ce terme, bornant nos études à la diffraction de Bragg correspondant au seul premier terme.

Le facteur de structure associé à l'ensemble de ces deux demi-hélices positive et négative est donc :

$$F(R, \psi, l/c) = \frac{1}{2}(F_+ + F_-) \quad [5]$$

Nous allons maintenant donner l'expression de l'intensité en fonction des paramètres définissant la position de ces deux demi-hélices dans la maille.

Les coordonnées cylindriques r_j , φ_j , z_j d'un atome de l'unité asymétrique de l'hélice positive sont données dans un système d'axes tel que $\varphi_j = 0$ et $z_j = 0$ pour le C_α .

Nous pourrions alors définir les paramètres suivants, (voir figure 3) :

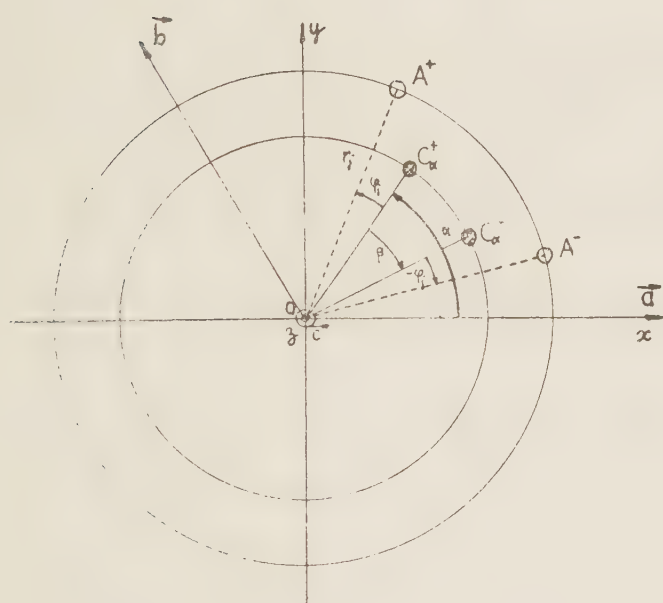


FIGURE 3
Projection équatoriale d'un atome A^+ de l'hélice positive de coordonnées $(r_j, \varphi_j + \alpha, z_j)$ et de son homologue A^- sur l'hélice négative de coordonnées $(r_j, -(\varphi_j + \beta) + \alpha, -(z_j + t))$.

- α rotation globale du système constitué par les deux demi-hélices autour de l'axe $\vec{c}$.
- β rotation de la seule hélice négative par rapport à son axe $-\vec{c}$.
- t translation de la seule hélice négative le long de $-\vec{c}$.

Pour chaque atome défini par $(r_j, \varphi_j + \alpha, z_j)$ de l'unité asymétrique de l'hélice positive on a un atome correspondant sur l'hélice négative défini par $(r_j, -(\varphi_j + \beta) + \alpha, -(z_j + t))$;

posons $\Phi_j = -n\varphi_j + 2\pi l z_j/c$

$$\gamma = n\beta - 2\pi l t/c$$

de [1] et [5] on tire :

$$A_n = \cos \left[n\left(\frac{\pi}{2} - \alpha\right) + \frac{\gamma}{2} \right] \sum_j f_j J_n(2\pi R r_j) \cos \left(\Phi_j - \frac{\gamma}{2} \right) \quad [6]$$

$$B_n = \sin \left[n\left(\frac{\pi}{2} - \alpha\right) + \frac{\gamma}{2} \right] \sum_j f_j J_n(2\pi R r_j) \cos \left(\Phi_j - \frac{\gamma}{2} \right)$$

Soit encore en posant :

$$\Gamma = n\left(\frac{\pi}{2} - \alpha\right) + \frac{\gamma}{2}$$

$$F_n = \sum_j f_j J_n(2\pi R r_j) \cos \left(\Phi_j - \frac{\gamma}{2} \right)$$

$$F(R, \psi, l/c) = \sum_n (A_n + i B_n) \exp i n \psi = \sum_n F_n \exp i (n \psi + \Gamma) \quad [7]$$

dans le cas d'une hélice avec u suffisamment grand (hélice α par exemple) on a :

$$I(R, l/c) = \langle FF^* \rangle_\psi = A_n^2 + B_n^2 = F_n^2$$

expression qui ne dépend pas de α .

o Cas d'hélices concentriques de
même pas c mais de symétrie différente

Lorsque nous avons abordé le problème de la structure des chaînes latérales de la poly-L-méthionine il nous a fallu chercher l'expression de l'intensité diffractée par un polypeptide dont le squelette et les chaînes latérales n'admettent pas la même symétrie hélicoïdale, tout en ayant la même répétition axiale c.

Chaque demi-hélice du cas précédent se divise maintenant en deux sous-hélices caractérisées par les paramètres (u_1/t_1) et (u_2/t_2) . La sommation sur j de l'expression [1] se divise en deux sommations l'une sur $\{j_1\}$ l'unité asymétrique de la sous-hélice (u_1/t_1) et l'autre sur $\{j_2\}$ correspondant à la sous-hélice (u_2/t_2) , on a :

$$\begin{aligned} F(R, \psi, l/c) &= \sum_{n_1} (A_{n_1} + iB_{n_1}) \exp(in_1 \psi) + \sum_{n_2} (A_{n_2} + iB_{n_2}) \exp(in_2 \psi) \\ &= \sum_{n_1} F_{n_1} \exp i(n_1 \psi + \Gamma_{n_1}) + \sum_{n_2} F_{n_2} \exp i(n_2 \psi + \Gamma_{n_2}) \quad [8] \end{aligned}$$

$$\text{avec : } F_{nk} = \sum_{\{jk\}} f_{jk} J_{nk}(2\pi R r_{jk}) \cos(\Phi_{jk} - \gamma_k/2)$$

$$\text{où } \Phi_{jk} = -nk \varphi_{jk} + 2\pi l z_{jk}/c$$

$$\gamma_k = nk \beta - 2\pi l t/c$$

$$\Gamma_{nk} = nk(\pi/2 - \alpha) + \gamma_k/2$$

dans le cas où la sommation sur les nk se réduit à un seul terme on a :

$$FF^* = F_{n_1}^2 + F_{n_2}^2 + 2F_{n_1}F_{n_2} \cos[(n_1 - n_2)\psi + \Gamma_{n_1} - \Gamma_{n_2}]$$

d'où

$$\boxed{\begin{aligned} I(R, l/c) &= \langle FF^* \rangle_{\psi} = F_{n_1}^2 + F_{n_2}^2 \quad \text{si } n_1 \neq n_2 \\ &= (F_{n_1} + F_{n_2})^2 \quad \text{si } n_1 = n_2 \end{aligned}} \quad [9]$$

Dans le cas général $n_1 \neq n_2$, compte tenu des approximations faites, les deux sous-hélices se comportent indépendamment l'une de l'autre.

IV. 4) Facteur de corrélation ρ

Pour mesurer l'accord entre les valeurs théoriques et expérimentales des modules des facteurs de structures on peut utiliser le facteur R classique :

$$R = \frac{\sum_1 |F_1^C| - \frac{1}{K} |F_1^O|}{\sum_1 |F_1^O|} \quad [10]$$

où $|F_1^C|$ est égal à $\sqrt{I}$ obtenu par [7] et $|F_1^O|$ à $\sqrt{I_{obs}}$, I_{obs} étant l'intensité observée ; K est un facteur d'échelle.

Le défaut de cette grandeur R est qu'elle dépend de K, qui est mal défini lorsque l'on a peu de réflexions et qui constitue un paramètre supplémentaire un peu artificiel lorsque l'on veut optimiser R.

Certains auteurs, dont J.J. Birktoff et D.M. Blow (11), considèrent que le facteur de corrélation ρ , entre les modules des facteurs de structure calculés et observés, donne une meilleure mesure de l'agrément d'un modèle que le facteur R. Comme par ailleurs, ce paramètre ne dépend pas du facteur d'échelle K, nous l'avons préféré, nous aussi, au facteur R.

Le facteur de corrélation ρ est donné par l'expression

$$\rho = \frac{\sum_1 (|F_1^C| - \overline{|F^C|}) \times (|F_1^O| - \overline{|F^O|})}{\sigma_o \sigma_c} \quad [11]$$

où $\overline{|F^C|}$ et $\overline{|F^O|}$ représentent respectivement les moyennes des valeurs de $|F_1^C|$ et $|F_1^O|$, σ_o et σ_c représentant les écarts types respectifs de ces deux ensembles de valeurs.

B - LES FONCTIONS POTENTIELLES EMPIRIQUES

Les calculs conformationnels effectués à partir de fonctions d'énergie potentielle empiriques reposent sur les deux simplifications suivantes :

- i) les énergies d'interaction interatomiques d'un système polyatomique quelconque sont réduites aux interactions entre paires d'atomes. Les termes faisant intervenir des triplets, des quadruplets etc... et qui sont dûs à la polarisation des atomes sont négligés.
- ii) on pratique une partition arbitraire et souvent contestée (Pullman (56)) de l'énergie totale du système. Ces divers termes sont généralement les suivants :
 - P : énergie d'interaction entre atomes non liés ou énergie de van der Waals
 - HB : énergie des liaisons hydrogènes
 - Q : énergie d'interaction électrostatique
 - T : énergie de torsion autour d'une liaison, due à l'existence d'une barrière de rotation
 - V : énergie de déformation des angles de valence
 - L : énergie due à la variation de la longueur d'une liaison.

Cette liste n'est pas limitative et l'on peut y rajouter l'énergie de polarisation ou bien certaines interactions avec le solvant, l'énergie totale du système est donc de la forme :

$$E = P + HB + Q + T + V + L + \dots \quad [12]$$

Dans nos calculs seuls les cinq premiers termes ont été utilisés.

I. Energie de van der Waals ou d'interaction entre atomes non liés

P est donc de la forme :

$$P = \sum_j \sum_{i>j} P_{ij} \quad (i \text{ et } j \text{ courant sur les atomes de la structure})$$

les termes P_{ij} qui comportent une partie attractive et une partie répulsive revêtent des formes variables suivant les auteurs.

Il existe deux grandes catégories de potentiels de van der Waals : les potentiels en 6-12 et ceux en 6-exponentielle.

I. 1) Les potentiels en 6-12

Ils sont de la forme :

$$A_{ij} = \frac{-A_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{12}} \quad ; \quad r_{ij} \text{ est la distance entre les centres des atomes } i \text{ et } j.$$

La partie attractive $\frac{-A_{ij}}{r_{ij}^6}$ est due aux interactions dipole-dipole des

deux atomes i et j . Scott et Scheraga (60) en appliquant l'équation de Slater-Kirkwood donnent l'expression suivante pour le paramètre A_{ij} :

$$A_{ij} = \frac{\left(\frac{3}{2}\right) e(\hbar / m^{\frac{1}{2}}) \alpha_i \alpha_j}{\left[(\alpha_i / N_{\text{eff}}^i)^{\frac{1}{2}} + (\alpha_j / N_{\text{eff}}^j)^{\frac{1}{2}}\right]} \quad [13]$$

où m est la masse de l'électron, e la charge électronique, α_i la polarisabilité atomique, N_{eff} un facteur de correction qui est sensé rendre compte de la nature des liaisons chimiques, de leur force et de leur orientation. C'est-à-dire que N_{eff} est le nombre effectif d'électrons autour du noyau d'un atome lié. La table (1) donne ces coefficients pour les divers atomes utilisés dans le cas des polypeptides.

Atome	$r_i^o (\text{\AA})$	$10^{24} \times \alpha \text{ (cm}^3\text{)}$	N_{eff}
C	1,70	0,93	5,2
N	1,55	0,87	6,1
O	1,52	0,84	7,0
H	1,20	0,42	0,9
S	1,80	0,34	10,0

A - Parametre permettant
le calcul des termes
 A_{ij}

T A B L E 1

i - j	A_{ij} (kcal $\text{\AA}^6 \text{ mol}^{-1}$)	B_{ij} (kcal $\text{\AA}^{12} \text{ mol}^{-1}$)
N - N	362,6	234,1
N - H	124,6	41,1
N - C	365,7	308,3
N - O	365,2	223,3
H - H	40,7	7,2
H - C	127,8	56,7
H - O	124,0 (56,1)*	38,4 (24,2)*
C - C	370,0	402,7
C - O	367,4	294,0
O - O	368,5	213,2
S - N	204,5	204,6
S - H	62,3	33,5
S - C	201,2	258,1
S - O	210,0	199,7
S - S	143,5	216,0

B - Constantes du potentiel
en 6-12 utilisées

* Valeur utilisée pour
la liaison hydrogene

La partie répulsive est la plus empirique, elle est obtenue en considérant que P_{ij} est minimum pour la distance $r_{ij}^* = r_i^o + r_j^o + \delta$. r_i^o et r_j^o sont les rayons de van der Waals des atomes i et j et δ un incrément de 0.2 $\text{\AA}$. Cet incrément δ tient compte du fait que, lorsque les atomes en contact font partie de molécules, leur distance d'équilibre calculée peut être inférieure à r_{ij}^* (effet attractif des atomes environnants). En ajoutant δ on évite que la distance d'équilibre soit inférieure à la somme des rayons de van der Waals. Voir à ce propos Brant et Coll. (15).

On a donc :

$$B_{ij} = \frac{1}{2} A_{ij} r_{ij}^{*6}$$

Si bien que

$$P_{ij} = \frac{A_{ij}}{2r_{ij}^{*6}} \left[- 2 \left(\frac{r_{ij}^*}{r_{ij}} \right)^6 + \left(\frac{r_{ij}^*}{r_{ij}} \right)^{12} \right] \quad [14]$$

I. 2) Les potentiels en 6-exponentielle

Ils sont aussi appelés potentiels de Buckingham et sont de la forme :

$$P_{ij} = \frac{A_{ij}}{r_{ij}^6} + B_{ij} \exp(-C_{ij} r_{ij})$$

Ces potentiels diffèrent donc des précédents par le terme répulsif. D'autre part, ce terme répulsif contient maintenant deux paramètres ajustables B_{ij} et C_{ij} , au lieu du seul terme B_{ij} . En fait il semble qu'il y ait des difficultés pour donner des valeurs correctes au terme C_{ij} qui est compris entre 4,35 et 4,70. Le terme en A_{ij} est identique à celui de la formule [13] et le terme B_{ij} est obtenu de la même manière que celui des potentiels 6-12.

Une forme un peu différente de ce type de potentiel est celle de Kitaigorodskii :

$$P_{ij} = -\frac{A}{r_{ij}^6} + B_{ij} \exp(-c_{ij} r_{ij})$$

où le terme A_{ij} est réduit à une constante A .

Une forme un peu modifiée de ce type de potentiel a été donnée par P. Claverie (17)

$$P_{ij} = k_i k_j \left[\left(1 - \frac{q_i}{N_i}\right) \left(1 - \frac{q_j}{N_j}\right) C \exp\left(-\alpha \frac{r_{ij}}{r_{ij}^*}\right) - A \left(\frac{r_{ij}^*}{r_{ij}}\right)^6 \right] \quad [15]$$

où $k_i k_j$ sont des constantes dépendant de chaque atome, N_i est le nombre d'électrons de valence de l'atome i , A et C sont des constantes.

$A = 0,214$ kcal/mole, $C = 47000$, $\alpha = 12,35$ kcal/mole. $r_{ij}^* = \sqrt{(2r_i^0)(2r_j^0)}$.

Ces paramètres sont donnés dans la table (2).

Atome	k_i	N_i	q_i^*
N	1,18	5	-0,202
H	1	1	-0,204
C'	1	4	0,318
O	1,36	6	-0,422

A - Coefficients donnés par Claverie (17) pour le calcul de ses fonctions potentielles pour les atomes du groupe peptide. Les coefficients k_i et N_i sont valables pour les atomes des chaînes latérales.

* D'après Poland et Scheraga (20)

T A B L E 2

Résidu	H_α	C_α	C_β	H_β	C_γ	H_γ	S_δ	C_ϵ	H_ϵ
Gly	0,051	0,000							
Ala	0,046	0,046	-0,110	0,040					
Val	0,046	0,043	-0,023	0,038	-0,115	0,038			
Met	0,046	0,046	-0,069	0,038	-0,024	0,035	0,058	-0,135	0,050

B - Charges partielles σ pour les chaînes latérales d'après Poland et Scheraga (20)

Dans ce travail nous avons utilisé les potentiels en 6-12 de Scheraga (59) que nous désignerons par "fonctions potentielles de Scheraga" et dont les valeurs des coefficients figurent à la table (1). Parfois nous avons aussi utilisé les fonctions ci-dessus données par la table (2) et que nous désignerons par "fonctions potentielles de Claverie".

II. La liaison hydrogène

La liaison hydrogène est traitée, aussi bien dans le cas des fonctions de Scheraga que dans celles de Claverie, comme un cas particulier des interactions de van der Waals. Les coefficients des potentiels 6-12 ou 6-exp sont modifiés de telle sorte que le contact O-H ait lieu pour $r_{OH} = 1,85 \text{ \AA}$ et que l'on retrouve l'énergie de la liaison hydrogène pour certains composés simples.

Lorsque nous utilisons les fonctions de Scheraga, les coefficients de la liaison hydrogène O-H sont :

$$A_{OH} = 56,08 \text{ et } B_{OH} = 2423 \text{ (Poland et Scheraga (53)).}$$

Lorsque nous utilisons les fonctions de Claverie les nouveaux coefficients utilisés sont interpolés entre deux valeurs extrêmes A, C, α et A', C', α' ; ($A' = A/5$; $C' = C/2,7$; $\alpha' = 13,8$).

Claverie donne une expression de la forme

$$K(x) = \frac{K + K'}{2} + \frac{K - K'}{2} (0,375 x^5 - 1,25 x^3 + 1,875 x)$$

pour le polynome d'interpolation entre les valeurs K et K', (K représente A, C ou α , et, K' représente A', C' ou α'), avec :

$$x = [r_{ij} - \frac{(R_m + R_M)}{2}] / [(R_M - R_m)/2]$$

où $R_m = 1,8 \text{ \AA}$; $R_M = 2,6 \text{ \AA}$ définissent le domaine d'existence de la liaison hydrogène.

Dans ce cas on passe continuellement de la forme "liaison hydrogène" à la forme normale de l'interaction de van der Waals.

Chaque interaction entre un oxygène du groupement peptidique C=O et un hydrogène d'un groupement peptidique NH est calculée avec ces nouveaux coefficients, quelque soit le groupe peptide auquel ces atomes appartiennent.

III. Energie électrostatique

L'énergie électrostatique Q du système macromoléculaire est calculée par l'approximation du monopole : on suppose que chaque atome est porteur d'une charge q_i (exprimée en fraction de charge électronique), on a donc pour Q exprimé en kcal/mole résidu :

$$Q = \sum_{i>j} 331,81 \frac{q_i q_j}{D r_{ij}}$$

où D est une constante diélectrique effective tenant compte de la polarisabilité du milieu. En fait dans tous nos calculs nous prenons $D = 1$ car la polarisabilité des polypeptides que nous avons étudiés est faible et que pour l'essentiel ils peuvent être considérés comme se trouvant dans le vide.

Les charges partielles q_i sont calculées par une méthode due à Del Re (21) pour les charges σ , les charges π étant ajustées empiriquement pour redonner le moment dipolaire de petites molécules.

Dans la table (2) nous reproduisons les valeurs calculées ainsi par Poland et Scheraga (20), valeurs que nous avons utilisées.

IV. Energie de torsion

Le terme T d'énergie de torsion autour d'une liaison est la simple somme de termes du type :

$$T_{\alpha} = U_{\alpha} (1 + k \cos h \alpha)$$

Nous avons considéré cinq sortes de torsion possibles autour des liaisons : $N - C_{\alpha}$, $C_{\alpha} - C'$, $C' - N$, $C - C$ (du type aliphatique), et $C - S$.

Nous donnons, ci-dessous, les valeurs des constantes U_{α} , k et h proposées par Scheraga (59) en fonction du type de liaison :

liaison	α	U_{α} kcal/mole	k	h
$N - C_{\alpha}$	φ	0,3	- 1	3
$C_{\alpha} - C'$	ψ	0,1	+ 1	3
$C' - N$	ω	10	1	2
$C_{al} - C_{al}$	χ	1,4	1	3
$C_{al} - S'$	χ	1,0	1	3

TABLE 3
Parametres définissant
les potentiels de torsion

V. Energies de déformation

Parfois il est nécessaire d'introduire la déformation d'un angle de valence (τ par exemple) ou d'une longueur de liaison, Fraser et Mac Rae (30) proposent les expressions suivantes :

$$U_{\tau} = \frac{1}{2} k_{\tau} (\delta\tau)^2 \quad \text{avec } \delta\tau \text{ exprimé en radian et} \\ k_{\tau} = 80 \text{ kcal/mole}$$

$$U_l = \frac{1}{2} k_l (\delta l)^2 \quad \text{avec } k_l = 1\,000 \text{ kcal/mole } \text{\AA}^2 .$$

C - CONSTRUCTION DE MODÈLES DE CRISTAUX
DE POLYPEPTIDES ET CALCUL DE LEUR
ÉNERGIE DE CONFORMATION

I. Construction d'une chaîne de polypeptide

La méthode de construction utilisée dans l'ensemble de ce travail est celle mise au point par J. Hermans et D. Ferro (36). Cette méthode est fondée sur le modèle de l'"arbre" qui assimile une chaîne de polymère ramifiée à un arbre (lesquelette de la chaîne constituant le tronc, les chaînes latérales représentant les branches et les feuilles). Cette méthode permet la construction systématique d'une chaîne quelconque à partir des seules données géométriques caractérisant les unités qui composent cette chaîne. Dans le cas d'une chaîne polypeptidique de séquence quelconque, la donnée des angles de valence, angles de torsion autour des liaisons et longueur des liaisons pour les différents types de liaisons interatomiques qui interviennent dans les vingt acides aminés ainsi que celle d'une table caractérisant l'"arbre" et ses ramifications, suffit à déterminer les coordonnées des atomes dans un système d'axes arbitraires.

Dans les différents cas que nous avons traités, les angles de valences sont considérés comme des constantes de la construction (sauf parfois l'angle $\tau = \widehat{NC\alpha C'}$) et les longueurs des liaisons adoptées sont celles de la littérature, Scheraga (59) figure (4). Dans le cas où des données cristallographiques précises existent (poly-L-alanine déterminée par Arnott (5)), ces valeurs sont utilisées. Les angles de torsion φ , ψ , ω et éventuellement χ_1 (voir figure 5) sont toujours considérés comme des variables du problème.

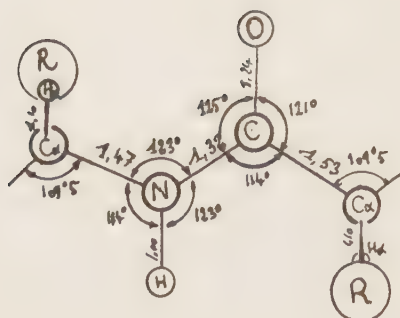


Figure 4

Paramètres définissant le groupe amide

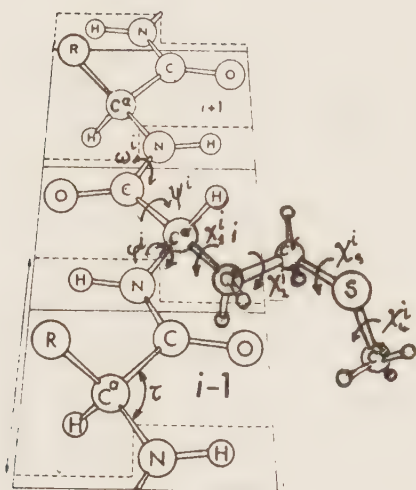


Figure 5

Définition des angles variables du problème de construction d'une chaîne de polypeptide. Cas d'une chaîne latérale de méthionine.

II. Méthode générale de construction d'une hélice dans son système d'axes. Variables du problème.

Les variables les plus générales que nous avons utilisées pour la construction d'une chaîne hélicoïdale de polypeptide contenant n résidus peptidiques par unité répétitive, sont donc (voir figure 5) $\varphi^j, \psi^j, \omega^j, \tau^j$ et χ_1^j , ($j = 1, n$) qui permettent grâce à un programme du type de celui décrit ci-dessus d'obtenir les coordonnées (x_k, y_k, z_k) de chaque atome de l'hélice dans un repère arbitraire.

Le problème est alors de transformer ces coordonnées en de nouvelles coordonnées (X_k, Y_k, Z_k) exprimées dans le repère propre de l'hélice qui est tel que l'axe $\vec{OZ}$ coïncide avec celui de l'hélice et l'axe $\vec{OX}$ passe par le premier $C\alpha$ d'une unité répétitive.

En général on connaît expérimentalement les valeurs de $\underline{h}$ (translation par unité le long de l'axe de l'hélice) et $\underline{\theta}$ (rotation par unité) qui caractérisent l'hélice étudiée (voir figure 1) et l'on cherche à optimiser une fonction $F(\varphi^1, \psi^1, \omega^1, \tau^1, \chi_1^1, \dots)$ $\underline{h}$ et $\underline{\theta}$ restant fixés. Arnott et Wonacott (3) ont résolu un problème de ce genre où F est la fonction des moindres carrés des problèmes de raffinement de rayons X. Ils traitent la contrainte d'hélicité par une méthode de Lagrange, les contraintes exprimant analytiquement le fait que les coordonnées des atomes du résidu $j + 1$ sont liées à celles des atomes du résidu j par une transformation hélicoïdale de paramètres $\underline{h}$ et $\underline{\theta}$, mais cela nécessite l'utilisation de quatre paramètres supplémentaires pour définir la position de l'hélice dans le processus d'optimisation : $\theta_x, \theta_y, \theta_z$ les angles d'Euler, qui maintiennent l'hélice dans une orientation correcte, et D le rayon de l'hélice pour un atome donné, un $C\alpha$ par exemple.

Nous avons préféré utiliser une autre méthode que nous estimons plus simple et moins couteuse en temps de calcul.

Sugeta et Miyazawa (62) ont donné des relations (voir Annexe 1) qui permettent d'exprimer $\underline{h}$ et $\underline{\theta}$ en fonction des angles $(\varphi^j, \psi^j, \omega^j, \tau^j)$. A partir de ces relations il est possible, inversement, d'exprimer un couple (φ^k, ψ^k) arbitraire en fonction de $\underline{h}$, $\underline{\theta}$ et des autres variables, le choix de ce couple dépend du problème posé. Par exemple, lorsqu'il n'y a qu'un seul résidu peptidique par unité, on a $\varphi = \varphi(\omega, \tau, \theta, h)$, $\psi = \psi(\omega, \tau, \theta, h)$. Dans nos programmes, un des couples (φ^k, ψ^k) est ainsi déterminé en résolvant les équations de Sugeta et Miyazawa par une méthode de Newton qui ne nécessite pas plus de 4 à 5 itérations pour donner les valeurs de ces angles avec 6 chiffres significatifs, on a ainsi :

$$\varphi^k = \varphi(\varphi^j, \psi^j, \omega^j, \tau^j, h, \theta) \quad j \neq k$$

$$\psi^k = \psi(\varphi^j, \psi^j, \omega^j, \tau^j, h, \theta) \quad j \neq k$$

Par cette méthode on a réussi à éliminer deux variables, φ^k et ψ^k , et l'on a des paramètres $\varphi^j, \psi^j, \omega^j, r^j$, $j \neq k$ compatibles avec l'hélice donnée définie par h et θ . Pour déterminer les coordonnées (X_k, Y_k, Z_k) il suffit alors de construire la matrice de passage entre les deux systèmes de référence, ceci se fait aisément à partir des coordonnées des C_α dans l'un et l'autre système (voir Annexe 1).

Le problème d'optimisation comporte ainsi six variables de moins que celui de Arnott et Wonacott, ce qui est toujours appréciable : la convergence est alors accélérée.

Par contre, un point délicat de cette méthode est qu'il faut borner les domaines de variation de $(\varphi^j, \psi^j, \omega^j, \tau^j)$ $j \neq k$ de sorte que l'hélice (h, θ) soit toujours définie géométriquement ; cela nécessite une définition préalable de ces domaines et l'utilisation de changements de variable du genre :

$$\varphi^j = \varphi_0^j + \Delta\varphi^j \sin x$$

qui assurent que : $\varphi_0^j - \Delta\varphi^j \leq \varphi^j \leq \varphi_0^j + \Delta\varphi^j$

Cependant, il n'est pas besoin de prendre de telles précautions lorsque l'on reste au voisinage de la solution.

Un autre inconvénient est la quasi-impossibilité de définir analytiquement les dérivées du type $\frac{\partial F}{\partial \varphi^j}$, $j \neq k$; mais ce que l'on perd en précision par l'utilisation d'une dérivation numérique est largement récupéré par la réduction du nombre des variables.

III. Construction des feuillets d'hélice 2_1

Les feuillets d'hélices parallèles ou antiparallèles sont engendrés suivant le schéma suivant :

- La première chaîne est placée de telle sorte que le premier C_α soit sur l'axe $\vec{ox}$ du repère cartésien et que l'axe $\vec{oy}$ coïncide avec l'axe

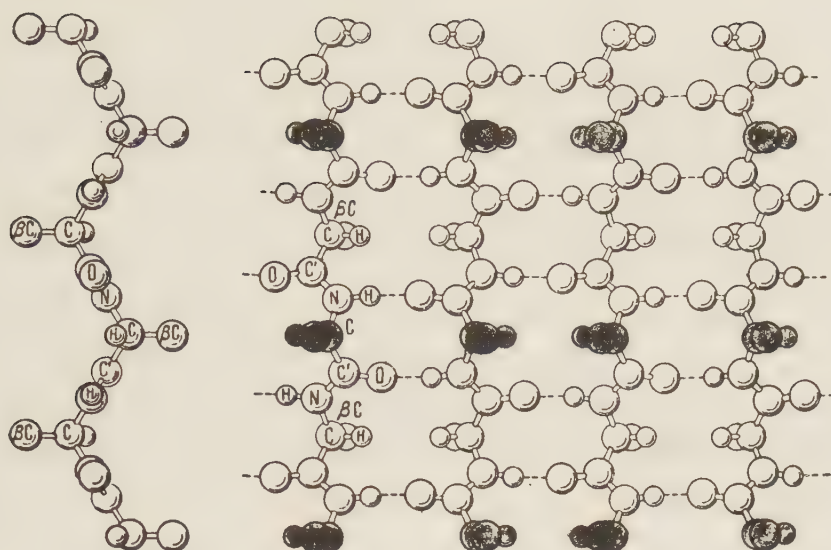


Figure 6

feuillet plissé antiparallèle

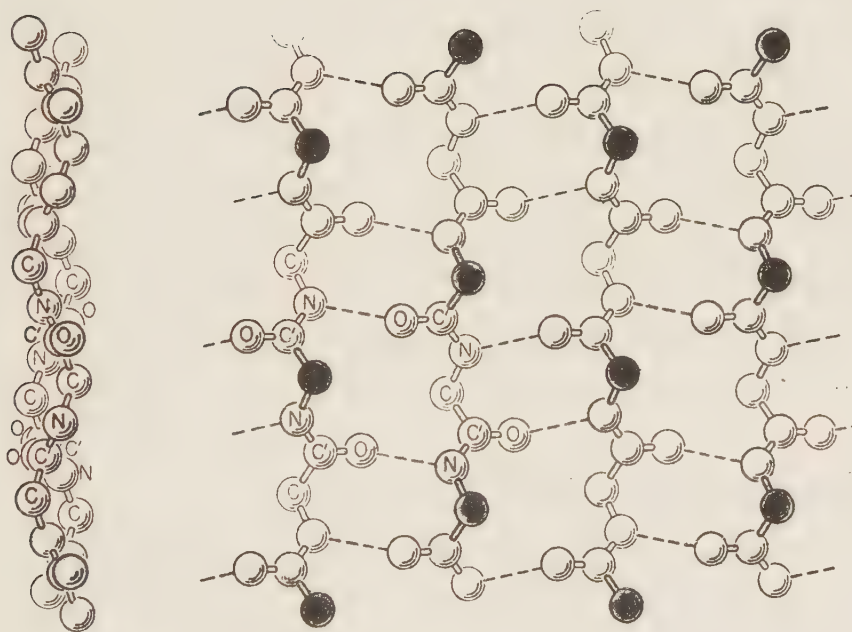


Figure 7

feuillet ridé antiparallèle

hélicoïdal de la chaîne. On désignera par $\underline{b}$ la période de répétition le long de $\vec{oy}$. Cette première chaîne est alors tournée d'un angle $\underline{\alpha}$ autour de $\vec{oy}$ de sorte que les liaisons CO et NH soient à peu près parallèles à $\vec{ox}$ (voir figure 8).

- La deuxième chaîne qui échange des liaisons hydrogènes avec la première est placée de telle sorte que son axe coïncide avec l'axe ($x = a, z = 0$), le paramètre $\underline{a}$ étant le paramètre cristallin qui définit la translation des chaînes suivant $\vec{ox}$. La position de cette deuxième chaîne sur son axe est définie par le paramètre $\underline{dy}$ (coordonnée y du premier $C\alpha$ de cette chaîne ou translation relative des deux chaînes consécutives suivant $\vec{oy}$) et par l'angle α si cette chaîne est liée à la première par un axe d'ordre 2 ou par un angle $\beta \neq \alpha$ dans le cas où ces chaînes sont indépendantes (voir figure 8).

τ Différents types de feuillets

Différents types de feuillets constitués par des hélices 2_1 de polypeptides ont été proposés par Pauling (27) et (28), nous exposerons brièvement les caractéristiques de deux d'entre eux.

a) Feuillets plissés de chaînes antiparallèles

Ces feuillets sont constitués par la répétition tous les $2\vec{a}$ (suivant $\vec{ox}$) du couple de deux chaînes polypeptidiques antiparallèles, échangeant des liaisons hydrogènes et images l'une de l'autre par rapport à un axe d'ordre 2 perpendiculaire au plan du feuillet (parallèle à $\vec{oz}$) et passant par le point $(\frac{a}{2}, \frac{dy}{2})$ (voir figures 6 et 8).

b) Feuillets ridés de chaînes antiparallèles

Ces feuillets sont du même type que les feuillets plissés, excepté que l'axe d'ordre 2 est ici remplacé par un centre d'inversion, ce qui rend les chaînes antiparallèles images l'une de l'autre dans un miroir. On conçoit aisément qu'un tel feuillet n'est valable que pour l'homopolypeptide polyglycine, (voir figure 7).

IV. Construction du Réseau

Le réseau est engendré suivant ses propres éléments de symétrie (simple translation ou axe d'ordre 2_1 par exemple). On adoptera les notations suivantes pour en définir les paramètres géométriques :

- . $\underline{c}$ est la distance interfeuillelet suivant $\vec{oz}$
- . $\underline{da}$ est le déplacement relatif de deux feuillelets successifs suivant $\vec{ox}$
- . $\underline{db}$ est le déplacement relatif de deux feuillelets successifs suivant $\vec{oy}$

(voir figure 8).

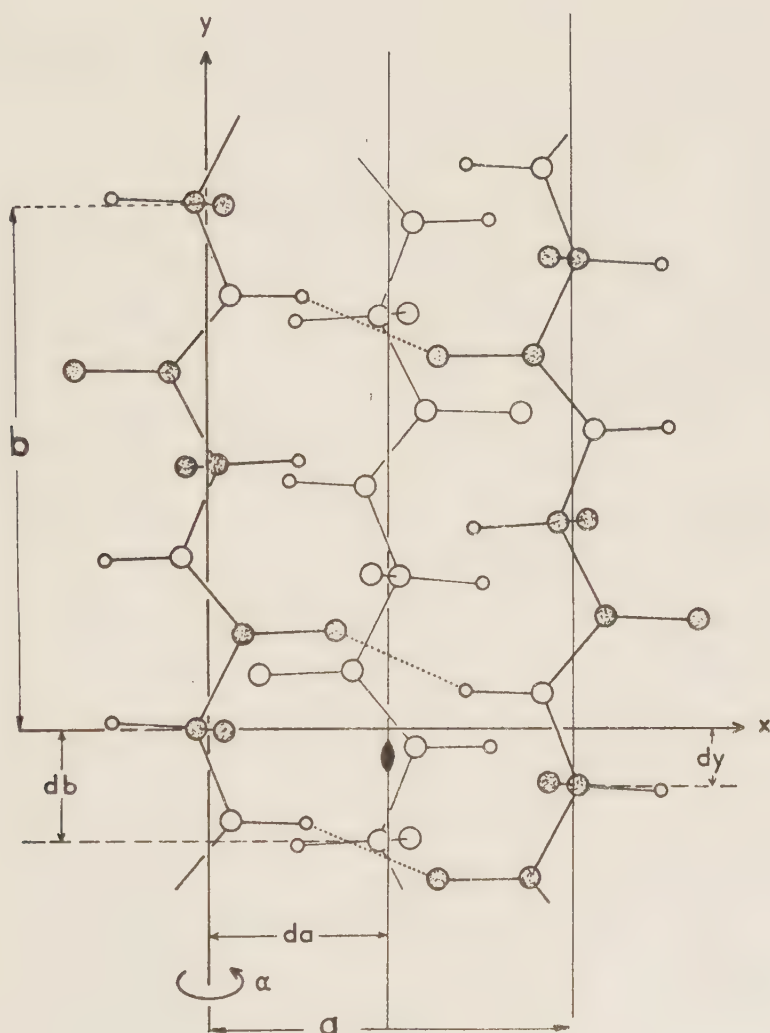


Figure 8
réseau de feuillelets antiparallèles

V. Empilements de feuillets plissés de symétrie binaire constitués de chaînes antiparallèles

Le calcul montre que dans les structures en feuillets de polypeptides les interactions entre feuillets prépondérantes, responsables de la structure, sont celles qui existent entre un feuillet et ses deux plus proches voisins. On peut donc rendre compte d'une structure en feuillets de façon satisfaisante en ne considérant que trois feuillets superposés. L'adjonction de deux feuillets supplémentaires, si elle modifie la valeur de E ne modifie pratiquement pas les valeurs des paramètres de la structure la plus stable.

Or, il n'y a que quatre manières d'empiler trois feuillets, elles sont schématisées par les figures :

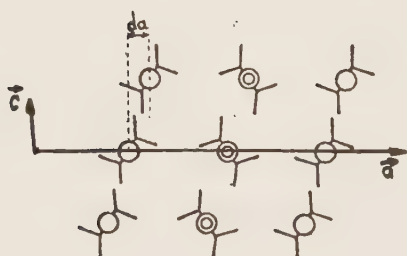


Figure 9
 Modèle I

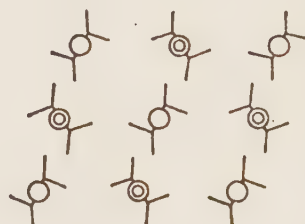


Figure 10
 Modèle II

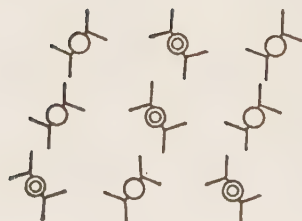


Figure 11
 Modèle III

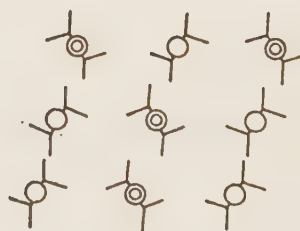


Figure 12
 Modèle IV

IV. Construction du Réseau

Le réseau est engendré suivant ses propres éléments de symétrie (simple translation ou axe d'ordre 2_1 par exemple). On adoptera les notations suivantes pour en définir les paramètres géométriques :

- . $\underline{c}$ est la distance interfeuillelet suivant $\vec{oz}$
- . $\underline{da}$ est le déplacement relatif de deux feuillets successifs suivant $\vec{ox}$
- . $\underline{db}$ est le déplacement relatif de deux feuillets successifs suivant $\vec{oy}$

(voir figure 8).

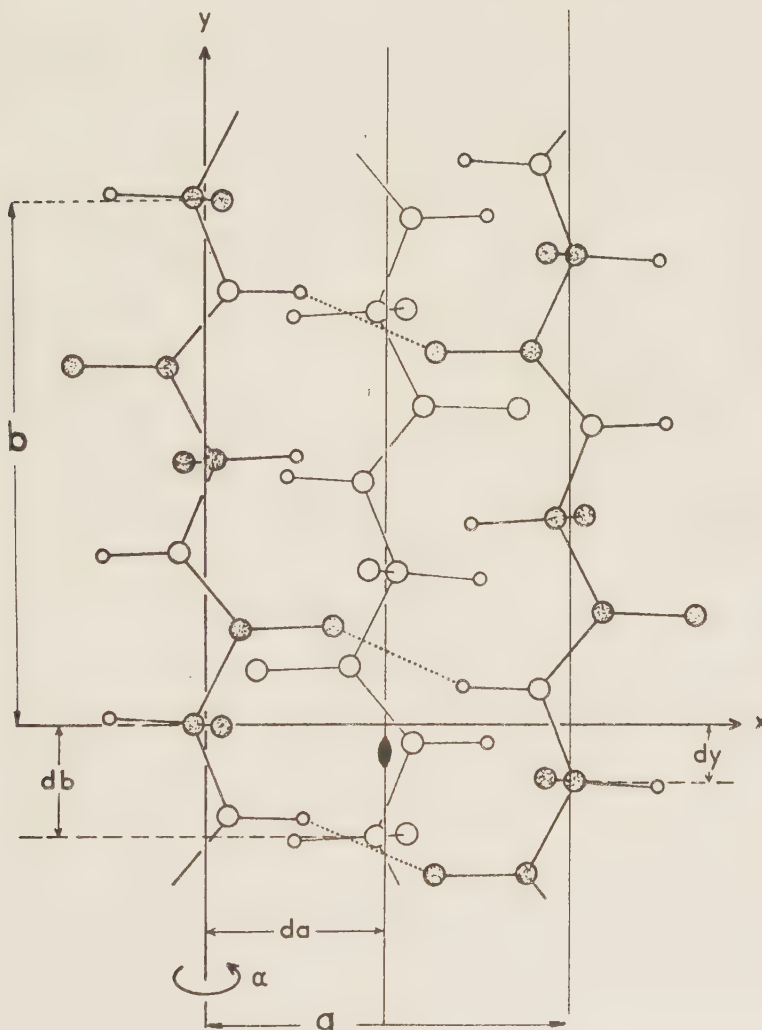


Figure 8
réseau de feuillets antiparallèles

V. Empilements de feuillets plissés de symétrie binaire
constitués de chaînes antiparallèles

Le calcul montre que dans les structures en feuillets de polypeptides les interactions entre feuillets prépondérantes, responsables de la structure, sont celles qui existent entre un feuillet et ses deux plus proches voisins. On peut donc rendre compte d'une structure en feuillets de façon satisfaisante en ne considérant que trois feuillets superposés. L'adjonction de deux feuillets supplémentaires, si elle modifie la valeur de E ne modifie pratiquement pas les valeurs des paramètres de la structure la plus stable.

Or, il n'y a que quatre manières d'empiler trois feuillets, elles sont schématisées par les figures :

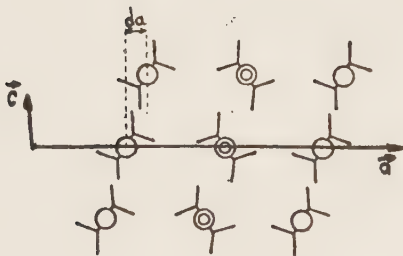


Figure 9
Modèle I

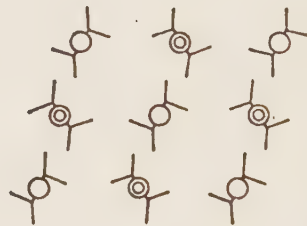


Figure 10
Modèle II

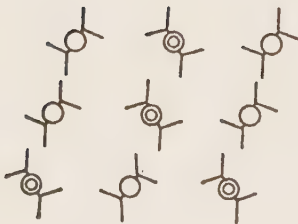


Figure 11
Modèle III

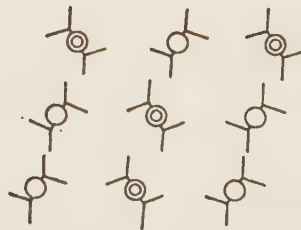


Figure 12
Modèle IV

Notons que les modèle III et IV sont les simples combinaisons de I et II dans le cas de feuillets plissés ayant une symétrie binaire (les chaînes antiparallèles sont liées par un axe binaire perpendiculaire au plan du feuillet). Ceci d'ailleurs se retrouve bien par le calcul. Il suffit donc de considérer les modèles I et II. Un examen des réseaux I et II montre que, par définition, on a :

$$E_I(da) = E_{II}(a - da) \quad [16]$$

E_I étant l'énergie du réseau I et E_{II} celle du réseau II.

Par conséquent, tous les cas possibles d'empilements pourront être analysés à partir du seul modèle I.

Par ailleurs, si on effectue sur le modèle I une rotation de π autour d'un axe perpendiculaire au plan des feuillets (ce qui revient à observer la face postérieure du réseau) (voir figure 9 bis), les types des chaînes sont inversés, α devient $-\alpha$ et l'on obtient exactement le réseau I mais pour la valeur $-da$.

Ceci permet d'écrire :

$$E_I(da) = E_I(-da) \quad [17]$$

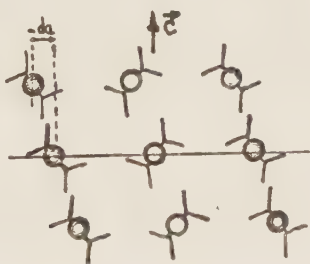


Figure 9 bis

Modèle I après retournement de 180° autour de l'axe $\vec{c}$.

* Origine de la maille statistique pour les réseaux réels

Dans le cas d'un réseau réel, dont les feuillets possèdent une symétrie d'ordre 2, on peut très bien admettre que dans un même feuillet deux chaînes consécutives se trouvent être parallèles. Cela

entraîne l'existence simultanée, au sein de la même structure, des modèles I et II. Ce défaut étant réparti de façon aléatoire dans le cristal, les modèles I et II sont donc équiprobables et l'énergie du réseau devient alors :

$$E = [E_I(da) + E_{II}(da)]/2 = [E_I(da) + E_I(a - da)]/2$$

or cette expression est minimale pour $da = a/2$, on a alors $E = E_I(a/2)$.

Il suffit donc de supposer la présence de défauts de ce type pour expliquer l'existence d'une maille orthorhombique. Comme de plus, les valeurs de E pour $da = \pm a/2$ sont identiques (relation 17) ceci explique le désordre $da = \pm a/2$ dans la position des feuillets mis en évidence par Arnott (5).

Contrairement à ce que font Mc Guire et coll. (45), il n'est donc pas nécessaire de construire des réseaux statistiques pour rendre compte de ce désordre. Le simple examen du modèle I avec $da = a/2$ suffit.

Toutefois il peut arriver qu'un réseau de feuillets plissés soit monoclinique. C'est le cas du poly(n propyl-L-aspartate) décrit par Bradbury et coll. (13). On peut admettre que dans ce cas où les chaînes latérales sont très longues le feuillet perd sa symétrie binaire et le raisonnement que nous faisons plus haut ne convient plus.

VI. Méthode de calcul de l'énergie dans un réseau de feuillets

L'énergie totale de conformation du réseau se décompose ainsi :

$$E = E_i + E_f + E_R$$

où E_i est l'énergie intramoléculaire de la chaîne ou des chaînes constituant le réseau, selon qu'il existe un ou plusieurs types de chaînes ; E_f est l'énergie des interactions entre les chaînes d'un même feuillet ;

E_R est l'énergie des interactions entre les feuillets qui constituent le réseau. Ces énergies sont toutes exprimées en kcal/mole de résidu peptidique.

i) E_i est l'énergie de l'interaction de l'unité répétitive de l'hélice avec elle-même et les autres unités de l'hélice. Soit $W_{k,j}$ l'énergie d'interaction de l'unité k avec l'unité j on a pour une hélice de n unités :

$$E_i = \sum_{j=1}^n \left(\frac{n-1+j}{n} \right) W_{j,1} \quad (\text{voir Parry et Suzuki (49)})$$

$$\text{avec } W_{j,1} = \sum_k^N \sum_l^N \epsilon_{kl}$$

où N est le nombre d'atomes de l'unité répétitive, k et l des indices qui courent sur les atomes des unités j et 1 respectivement, ϵ_{kl} est l'énergie d'interaction des deux atomes k et l .

$$\text{On a plus particulièrement : } W_{1,1} = \sum_{k=1}^N \sum_{l \neq k}^N \epsilon_{kl}$$

• Dans le cas d'une hélice infinie on aura :

$$E_i = \sum_{j=1}^{\infty} W_{j,1}$$

On remarquera que ces formules ne font intervenir chaque interaction qu'une seule fois.

Remarque : Comme nous ne nous intéressons qu'aux différences entre les énergies de deux conformations données, les interactions entre atomes dont la distance r_{ij} ne varie pas ne sont, autant que possible, pas prises en compte, c'est le cas des interactions dites "1-3" entre atomes séparés par deux liaisons covalentes.

- ii) E_f est calculée en prenant les interactions des atomes de l'unité asymétrique du feuillet avec les autres atomes du feuillet en prenant garde de ne pas recalculer les interactions déjà calculées dans E_i , puis en divisant par deux pour ne compter chaque interaction qu'une seule fois.
- iii) E_R est obtenue en considérant les interactions de l'unité asymétrique du feuillet central avec les atomes des autres feuillets divisées par deux.

Le nombre d'atomes par chaîne polypeptidique, le nombre de chaînes par feuillet et le nombre de feuillets par réseau est déterminé de telle sorte que chaque atome de l'unité asymétrique centrale puisse être considéré comme le centre d'une sphère de 7 Å de rayon contenue entièrement dans le réseau. Nous avons en effet considéré que les interactions du type Lennard-Jones n'ont plus à être prises en compte au delà de 7 Å (ce que le calcul confirme).

Par contre les interactions électrostatiques sont calculées sans coupure.

VII. Méthodes de minimisation utilisées

Pour chacun des problèmes que nous avons traité il s'agit de minimiser E en fonction des paramètres définissant la conformation des chaînes (φ^j, ψ^j , etc ...) et la géométrie du réseau (α, c, da, db , etc...). Nous avons donc été amenés à choisir un certain nombre de méthodes d'optimisation adaptées au mieux au problème traité.

VII. 1) Méthodes sans calcul du gradient

Dans les trois cas suivants :

- a) nombre de variables faibles (moins de 10)
- b) le calcul du gradient comporte des difficultés

c) les minima sont simples à trouver, ces méthodes sont intéressantes parce que faciles d'utilisation, peu encombrantes en place mémoire et sûres. Nous en avons utilisées deux :

- la méthode du Simplex de Nelder et Mead (48)
- et VAO4 de Powell (54).

Cette dernière étant souvent plus rapide que le Simplex.

VII. 2) Méthodes avec gradient

Lorsque le nombre de variables dépasse la dizaine et que la fonction dont on cherche un minimum est assez irrégulière on a intérêt à prendre des méthodes utilisant le gradient de cette fonction, car elles sont généralement plus rapides que les méthodes plus simples. Nous avons utilisé des méthodes dérivées de la méthode de gradients conjugués de Davidon (20) : la méthode de Fletcher et Powell (26) qui en résumant l'optimisation à un problème à une dimension nécessite un temps de calcul théoriquement indépendant du nombre de variables.

Lorsque le problème comporte des contraintes ces méthodes sont les seules indiquées, le traitement de la contrainte par les méthodes sans calcul du gradient (Powell (55)) étant trop aléatoires dans leur utilisation. Dans ce cas nous avons employé soit une méthode dérivée de celle de Fletcher et Powell qui traite les contraintes par une méthode du type Lagrange (méthode CONMIN de Haarhoff et Buys (35) qui s'est montrée efficace pour le traitement de la poly-L-méthionine, soit la méthode GREG due à Abadie (1) qui traite les contraintes indépendamment de la fonction, mais qui est d'un maniement délicat.

CHAPITRE II - ANALYSE CONFORMATIONNELLE DE
STRUCTURES MODELES DE POLYPEPTIDES

A - ETUDE DE QUELQUES MODÈLES HÉLICOÏDAUX DE POLYPEPTIDES ALTERNÉS L, D

I. Introduction

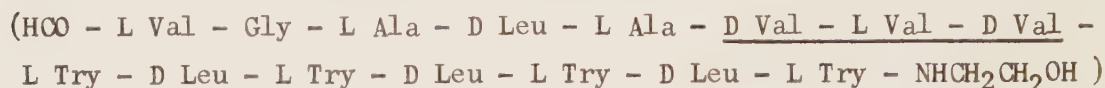
Il est connu depuis longtemps, que les copolypeptides statistiques (L,D) adoptent des conformations hélicoïdales de même type que celles adoptées par les polypeptides constitués uniquement d'acides aminés L ou D. (hélice α , feuillet β , voir (10)). Par contre, ce n'est que tout récemment, que Urry (66) imagina une nouvelle famille d'hélices, compatibles avec une séquence régulière alternée L,D : les hélices π (L,D). Parallèlement, Ramachandran (57) entreprit une étude théorique systématique de ces hélices qu'il rebaptisa hélices (LD) et que nous définissons dans l'annexe 2.

Dernièrement, Spach et Heitz (62) ont montré que le poly-D-L-glutamate de benzyle alterné pouvait subir une transconformation thermique de la conformation en hélice α à celle en hélice π^4 (L,D) ou (LD)₃, aussi bien en solution qu'à l'état solide.

Par ailleurs, Urry (67) a proposé une structure de ce type pour la Gramicidine A, un pentadécapeptide alterné L,D qui permet le passage d'ions à travers les membranes lipidiques.

Le diamètre intérieur de cet antibiotique devant permettre le passage d'ions NH_4^+ , Urry proposa une conformation en hélice (LD)₄.

Le problème qui se pose alors est de comprendre pourquoi ce composé adopte la conformation $(LD)_4$ de préférence à la conformation $(LD)_3$. Or, la Gramicidine A, dont la séquence chimique est :



contient la séquence - D Val - L Val - D Val -. Nous voulions savoir si cette séquence n'induisait pas une conformation en $(LD)_4$. Dans ce but, nous avons étudié les polypeptides $(D Val - L Val)_n$ et $(D Ala - L Val)_n$ que nous suspicions d'adopter une conformation en hélice $(LD)_4$. En effet, les résidus valyl (voir figure) semblent présenter moins d'interactions défavorables avec le squelette peptidique dans cette conformation que dans l'hélice $(LD)_3$, car ils en sont plus éloignés.

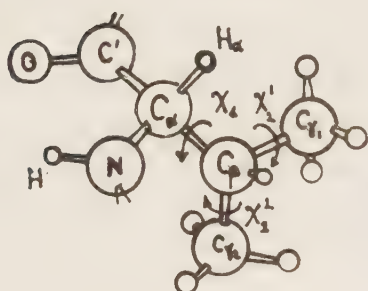


Figure 13

Valine

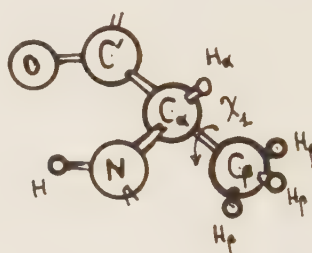


Figure 14

Alanine

Dimensions standard utilisées pour les chaînes latérales valyl & alanyl	
$C - C = 1,53 \text{ \AA}$	$C - \hat{C} - C = 109^\circ,5$
$C - H = 1,10 \text{ \AA}$	$C - \hat{C} - H = 109^\circ,5$

Des calculs analogues ont déjà été entrepris par Hesselink et Scheraga (37) ainsi que par de Santis (58) mais ces auteurs, soit n'ont pas envisagé le cas de l'hélice $(LD)_3$, soit n'ont pas envisagé la séquence $(D Val - L Val)_n$.

II. Modèles envisagés et mode de calcul

Pour chacun des trois polypeptides suivants : $(D \text{ Ala} - L \text{ Ala})_n$, $(D \text{ Val} - L \text{ Val})_n$ et $(D \text{ Ala} - L \text{ Val})_n$ nous avons recherché les conformations en hélices $(LD)_{3P}$ et $(LD)_{4P}$ d'énergie minimum. Dans le dernier cas, les deux hélices $(LD)_{3M}$ et $(LD)_{4M}$ (voir définition dans Annexe 2) ont été considérés. Les méthodes de calculs de l'énergie sont celles décrites précédemment. (page 37).

L'unité répétitive de l'hélice étant ici un dipeptide (D,L) nous avons les variables suivantes :

$\varphi^L, \psi^L, \varphi^D, \psi^D, \chi_1^L, \chi_1^D$ et χ_2^{kL}, χ_2^{kD} ($k = 1, 2$) dans le cas de la valine.

La rotation autour de la liaison $C\alpha - C\beta$ (χ_1) présente de fortes barrières de rotation dans le cas de la valine. Pour une conformation donnée, plusieurs optimisations de l'énergie ont donc été effectuées chacune avec des valeurs de départ pour les angles χ_1 de la valine prises dans des domaines différents.

Par exemple, pour $(D \text{ Ala} - L \text{ Val})_n$ nous avons envisagé de commencer l'optimisation avec successivement $\chi_1 = 180^\circ$, $\chi_1 = -60^\circ$. Pour $(D \text{ Val} - L \text{ Val})_n$ les couples de valeurs $(180^\circ, 180^\circ)$, $(100^\circ, -60^\circ)$, $(-60^\circ, 180^\circ)$ et $(-60^\circ, -60^\circ)$ ont été considérés. Les autres cas possibles donnent des contacts trop défavorables.

L'optimisation de l'énergie est alors effectuée en trois étapes. Dans un premier calcul les paramètres θ et h de l'hélice sont fixés aux valeurs déterminées par Ramachandran (57). Les angles φ^D et ψ^D sont alors des fonctions de θ , h , φ^L et ψ^L comme indiqué page 28.

L'optimisation n'est effectuée que sur les angles χ_i^j . Dans un deuxième calcul, φ^L et ψ^L sont optimisés ainsi que les χ_i^j ; φ^D et ψ^D étant toujours définis par θ et h , considérés comme fixés. Nous sommes ainsi certains de ne pas faire diverger l'optimisation de E et de définir des paramètres hélicoïdaux géométriquement corrects. Dans un dernier calcul

		(D Ala-L Ala) _n		(D Val-L Val) _n		(D Ala-L Val) _n			
		(DL) _{3P} *	(DL) _{4P}	(DL) _{3P} *	(DL) _{4P}	(DL) _{3P} *	(DL) _{4P}	(DL) _{3M} *	(DL) _{4M}
E _{ss}	v.d.w.	- 2,74	- 1,51	- 2,63	- 1,27	- 2,64	- 1,40	- 2,73	- 1,38
	elec.	2,56	2,34	- 6,35	- 7,12	- 2,93	- 3,39	- 3,06	- 3,02
	total	- 0,18	0,83	- 8,98	- 8,39	- 5,57	- 4,79	- 5,79	- 5,00
E _{sc}	v.d.w.	- 1,56	- 1,62	- 2,89	- 3,33	- 2,20	- 2,74	- 2,40	- 2,59
	elec.	-15,35	-15,88	- 0,59	- 0,52	- 6,05	- 6,22	- 5,91	- 6,04
	total	-16,91	-17,50	- 3,48	- 3,85	- 8,25	- 8,96	- 8,31	- 8,63
E _{cc}	v.d.w.	- 0,60	- 0,08	- 1,56	- 1,97	- 0,63	- 0,87	- 0,63	- 0,88
	elec.	- 7,08	7,51	0,03	0,09	2,57	2,79	2,58	+ 2,82
	total	- 7,68	7,43	- 1,53	- 1,88	1,94	1,92	1,95	+ 1,94
E _T	v.d.w.	- 4,36	- 3,21	- 7,08	- 6,58	- 5,47	- 5,00	- 5,76	- 4,85
	elec.	- 5,71	- 6,03	- 6,92	- 7,55	- 6,41	- 6,81	- 6,38	- 6,89
	total**	- 9,53	- 9,05	-13,39	-13,49	-11,40	-11,55	-11,60	-11,40
ϕ^L		-77°,9	-132°,3	-85°,6	-129°,4	-85°,8	-132°,0	128°,4	-127°,4
ψ^L		93°,0	140°,6	96°,8	137°,7	98°,3	138°,8	85°,0	105°,0
χ_1^L		-174°,7	+179°,9	-61°,6	-43°,9	-57°,1	-56°,5	-56°,3	-59°,1
ϕ^D		+130°,5	126°,3	132°,1	129°,3	128°,2	128°,1	79°,2	131°,5
ψ^D		-85°,3	-105°,1	-82°,7	-108°,5	-79°,9	-105°,6	-95°,3	-139°,4
χ_1^D		-177°,6	-178°,8	172°,2	-172°,4	-178°,0	-178°,7	174°,3	179°,4
θ		158°,8	114°,6	158°,4	114°,3	158°,8	114°,6	-158°,3	-114°,0
n		2,27	3,14	2,27	3,15	2,27	3,14	- 2,27	- 3,14
h		2,38	1,58	2,41	1,58	2,42	1,58	2,39	1,57

TABLE 4

* $\tau = 106^\circ$

** y inclus énergie de torsion et déformation τ

l'optimisation est effectuée en y intégrant φ^D et ψ^D . Les valeurs de θ et h sont alors recalculées en fin de programme à partir des valeurs obtenues pour φ^L , ψ^L , φ^D et ψ^D . Ce sont ces valeurs que nous donnons dans le tableau 4.

De tels calculs où les incertitudes sur les fonctions potentielles jouent sans aucune contrainte (pas de données expérimentales) ne peuvent donc pas prétendre à une grande exactitude. Ils peuvent cependant permettre de comparer divers modèles et indiquer quels types d'interactions sont prépondérantes.

III. Résultats

Dans le tableau [ci-contre], nous donnons les résultats de ces calculs. Les deux composantes (électrostatique et van der Waals) de l'énergie de conformation y sont présentées ainsi que les trois partitions supplémentaires suivantes : E_{ss} , E_{cs} , E_{cc} , où E_{ss} est l'énergie d'interaction entre les atomes du squelette peptidique (C_β inclus), E_{cs} celle des atomes du squelette avec ceux des chaînes latérales et E_{cc} celles des chaînes latérales entre elles.

Les hélices considérées sont des hélices de 16 résidus peptidiques, une coupure de $7 \text{ \AA}$ est appliquée sur les interactions de van der Waals.

IV. Discussion et Conclusion

Nous remarquerons tout d'abord qu'en ce qui concerne $(D\text{Val}-L\text{Val})_n$ les interactions les plus favorables sont obtenues pour des valeurs de χ_1^L et χ_1^D prises dans des domaines conformationnels différents (-60° et 180° respectivement). Ceci est dû au fait que les conventions prises pour définir l'origine des angles χ_1 ne donnent pas la même conformation lorsqu'il s'agit d'un résidu L ou d'un résidu D.

Le tableau 4 montre que dans les hélices $(LD)_{3P}$ et $(LD)_{4P}$ les interactions squelette-squelette sont plus favorables pour $(D\text{ Val-L Val})_n$ que pour $(D\text{ Ala-L Ala})_n$ et qu'inversement les interactions squelette - chaînes latérales sont plus favorables pour $(D\text{ Ala-L Ala})_n$ que pour $(D\text{ Val-L Val})_n$.

Nous attendions un peu ce résultat, mais un examen des composantes de ces énergies montre que les interactions électrostatiques jouent un rôle équivalent aux interactions de van der Waals, ce qui était imprévisible a priori. C'est donc essentiellement la différence dans les charges partielles des C_β de l'alanine et de la valine ($-0,110$ et $-0,023$ respectivement) qui est responsable de ces effets énergétiques contradictoires. Le bilan énergétique final, s'il rend l'hélice $(DL)_{3P}$ de $(D\text{ Ala-L Ala})_n$ un peu plus stable que l'hélice $(DL)_{4P}$, ne permet pas de trancher dans le cas de $(D\text{ Val-L Val})_n$. On peut donc conclure que le polypeptide $(D\text{ Val-L Val})_n$ est aussi stable en conformation $(DL)_{3P}$ qu'en $(DL)_{4P}$ et que la séquence $(D\text{ Val-L Val-D Val})$ ne doit pas être responsable de l'hélice $(DL)_{4P}$ de la Gramicidine A.

Nous avons étudié le polypeptide $(D\text{ Ala-L Val})_n$ pour voir si la valine induisait une hélice $(DL)_{4P}$ (droite) plutôt qu'une hélice $(DL)_{4M}$ (gauche). Là encore le calcul ne permet aucune conclusion, les différences entre les diverses énergies étant bien trop faibles.

Pour expliquer l'existence d'une hélice de grand diamètre pour la Gramicidine A, on peut alors envisager les hypothèses suivantes :

1. les résidus responsables de la conformation en $(DL)_4$ sont peut-être ceux de la longue séquence L Try-D Leu dont le comportement est difficile à analyser par l'analyse conformationnelle.
2. les interactions entre l'antibiotique et la membrane jouent certainement un rôle dont il est difficile de rendre compte par le calcul.
3. On ne peut pas exclure l'existence d'une autre conformation, encore inconnue, susceptible d'expliquer les propriétés géométriques de la gramicidine A et ayant une énergie plus basse que celle des hélices (L,D).

B - ETUDE CONFORMATIONNELLE DE MODÈLES EN FEUILLET DE POLYPEPTIDES

I. Analyse de la structure du cristal de polyglycine I

Jusqu'à une date récente (1974), le seul modèle proposé pour la structure de la polyglycine I (en feuillets) était celui de W.T. Atsbury (6) datant de 1949. Il s'agissait d'une maille monoclinique ($\beta = 114^\circ$) donnant une distance interfeuille de 3,44 Å voir figure 15 bis. Pauling et Corey (52) calculèrent les intensités théoriques du cliché de poudre sur la base d'une structure en feuillets plissés antiparallèles (voir figure 6) dont le groupe d'espace est P_{21} . L'accord obtenu était suffisamment bon pour qu'ils aient pu considérer ce modèle comme correct ; cependant ils ne donnèrent aucune explication sur la valeur de da différente de $a/2$, les feuillets plissés de polypeptides à chaînes latérales courtes donnant généralement des mailles orthorhombiques pour lesquelles da = $a/2$ (voir le § 5 page 34).

En 1974, Lotz (42) proposa une structure différente mais qui rendait compte elle aussi des intensités du cliché de poudre. Ce modèle est aussi une structure en feuillets antiparallèles mais "ridés" (rippled) au lieu d'être plissés (pleated). Ce type de feuillet avait été proposé en 1953 par Pauling (51), nous l'avons décrit au chapitre I à la page 32. Rappelons que dans ce type d'empilement le groupe d'espace est P_{21}/c , c'est-à-dire que l'axe d'ordre 2 (non cristallographique) perpendiculaire au plan des feuillets est remplacé par un centre d'inversion cristallographique (figures 7 et 16). La maille monoclinique (da $\neq a/2$) s'explique alors par de simples considérations d'encombrements stériques. (Fig. 15)

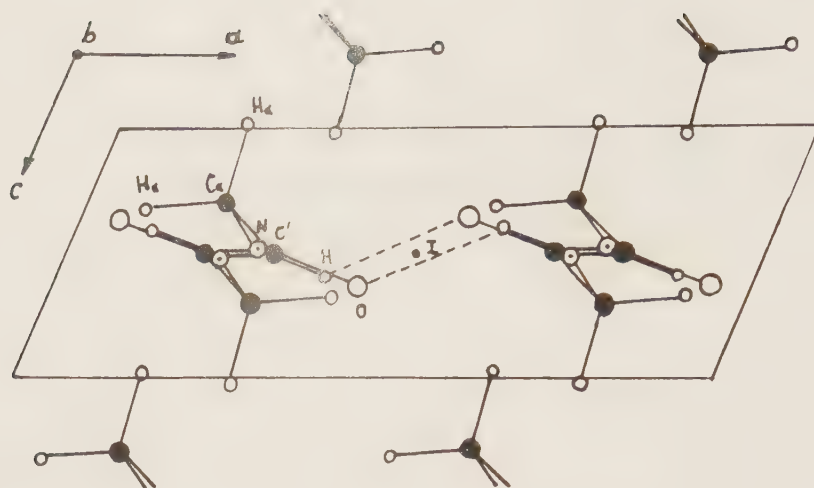


Figure 15

Maille de la polyglycine I en feuillet ridé
d'après Lotz (42).



Figure 15 bis

Maille de Atsbury (6)

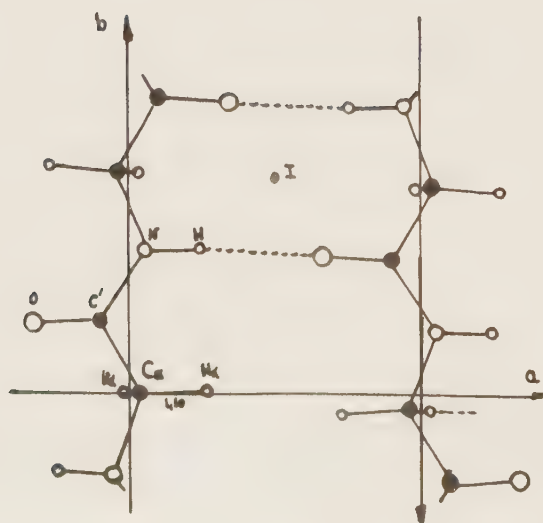


Figure 16

Construction du feuillet
ridé de polyglycine I.

I : centre d'inversion.

Comme le nombre de réflexions sur lesquelles aussi bien Lotz que Pauling ont bâti leur modèle est faible (une dizaine), nous avons pensé que le calcul conformationnel permettrait peut-être de trancher définitivement entre les deux structures. Nous avons donc entrepris de comparer les stabilités relatives de ces deux modèles. Leur construction ainsi que le calcul de leur énergie ont été effectués selon les méthodes décrites dans le chapitre I page 36.

I. 1) Modèle en feuillets ridés

Comme les résultats expérimentaux de B. Lotz portaient sur des monocristaux nous n'avons étudié qu'un seul type d'empilement : l'empilement en feuillets synclines (*) (modèle I de la figure 9). Reprenant les conventions de la page 33, les paramètres a et b de la maille sont fixés aux valeurs expérimentales :

$$\begin{aligned} a &= 4,77 \text{ \AA} \\ b &= 7,044 \text{ \AA} \end{aligned}$$

les paramètres considérés comme des variables du problème d'optimisation de l'énergie sont α , dy, c et da. L'unité assymétrique est, dans ce cas, constituée par une seule unité peptidique.

Les résultats de ce calcul d'optimisation sont résumés dans le tableau ci-contre. On remarquera que la structure calculée (colonne 2) est

	(1)	(2)
α	73°5	76°
<u>dy</u>	- 0,7 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$	- 0,7 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$
<u>c</u>	3,38 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$	3,35 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$
<u>da</u>	1,435 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$	1,65 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$
E kcal/ mole résidu	- 11,75	- 12,01
(1) données cristallographiques. (2) résultat de l'optimisation de E.		

bien monoclinique (da = 1,65 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$) et que la valeur calculée de c (3,35 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$) est très voisine de la valeur expérimentale (3,38 $\overset{\circ}{\text{\AA}}$). Cette légère différence peut d'ailleurs s'expliquer par le fait que les fonctions de Scheraga sous-estiment légèrement la répulsion.

(*) Un empilement est dit syncline si l'on passe d'un feuillet au suivant par des opérations de translation (voir page 73).

TABEAU 5

Dans la table ci-dessous nous donnons les coordonnées des atomes de l'unité asymétrique de la structure obtenue colonne (2) du tableau 5.

	$x(\text{\AA})$	$y(\text{\AA})$	$z(\text{\AA})$
N	- 0,266	0,061	- 1,253
H	- 1,185	- 0,329	- 1,211
C _α	0,173	0,693	0,000
H _α	1,266	0,613	0,088
H _α	- 0,118	1,753	- 0,003
C'	- 0,487	- 0,013	1,186
O	- 1,630	- 0,484	1,093

TABLE 6

Coordonnées du résidu glycyI dans la structure en feuillet ridé.

I. 2) Modèle en feuillets plissés

Ainsi que nous l'avons montré plus haut (page 35) il suffit de considérer l'empilement monoclinique de type I, dont le groupe d'espace est P_{21} pour rendre compte complètement de ce type de modèle.

L'unité asymétrique est constituée ici par deux résidus peptidiques liés par liaisons hydrogènes, donc situés sur des chaînes différentes et non par un seul résidu peptidique comme le pense Venkatachalam (69).

Les paramètres cristallins maintenus constants sont ici encore a et b. Mais si a garde toujours la valeur 4,77 Å, nous avons effectué des calculs avec b = 7,044 Å comme dans le cas du feuillet ridé et aussi avec b = 6,96 Å. Cette dernière valeur provient de l'étude cristallographique de Fraser et coll. (27) sur la poly(L-alanine-glycine). L'optimisation de E a été effectuée sur les paramètres α, dy, c et da dans le premier

	(1)	(2)	(3)
α	50°	52°	60°
dy	- 0,55 Å	- 0,55 Å	- 0,45 Å
c	3,55 Å	3,55 Å	3,55 Å
da	2,035 Å	2,385 Å *	2,385 Å *
E kcal/ mole résidu	- 10,77	- 10,72	- 11,01

(*) paramètre non pris en compte dans l'optimisation de E.
 (1) et (2) calcul effectué avec $b = 7,044$ Å.
 (3) calcul effectué avec $b = 6,96$ Å.

TABLEAU 7

Résultats des calculs
sur la polyglycine I en feuillets
plissés

également une maille statistique orthorhombique et l'on aurait $\underline{da} = a/2$.
 Ce n'est donc pas la structure définie par les résultats de la colonne 1 du tableau qu'il faut prendre pour modèle de la polyglycine I en feuillets plissés, mais bien celle définie par les résultats de la colonne 2. De plus les énergies dans ces deux cas sont très voisines ($\Delta E = 0,05$ kcal/mole résidu).

L'examen des résultats de la colonne 2 montre qu'une structure en feuillets plissés de polyglycine I aurait une distance interfeuille $\underline{c} = 3,55$ Å ce qui est très éloigné de la valeur expérimentale (3,38 Å).

Les résultats de la colonne 3 effectués avec $\underline{da} = a/2$ et $\underline{b} = 6,96$ Å, indiquent que la diminution du paramètre $\underline{b}$ n'entraîne aucune variation du paramètre $\underline{c}$. Ce fait est contraire à ce que supposent Fraser et coll. (27), pour expliquer la valeur anormalement élevée de ce paramètre (3,79 Å) dans le cas de $(Ala-Gly)_n$. Le calcul montre que le seul effet d'une modification

cas (colonne 1 du tableau 7). Les résultats montrent que la structure d'énergie minimale correspond à un empilement légèrement monoclinique : $\underline{da} = 2,035$ Å au lieu de $2,385$ Å ($a/2$), que l'on attendait pour une maille orthorhombique.

Dans les colonnes 2 et 3 nous donnons les résultats de l'optimisation de E en fonction de α , $\underline{dy}$ et $\underline{c}$, $\underline{da}$ étant maintenu constant et égal à $a/2$ (2,385 Å). Ces calculs ont été effectués dans ces conditions car, ainsi que nous l'avons montré à la page 36, si la polyglycine I adoptait une structure en feuillets plissés, elle adopterait

de la valeur de $\underline{b}$ est de faire tourner les chaînes sur leur axe de 52° à 60° .

I. 3) Conclusion

Cette étude avait pour but de justifier le modèle en feuillets ridés proposé par B. Lotz pour la polyglycine I. Il semble que les résultats soient sans équivoque. En effet, le modèle en feuillets ridés est plus stable que celui en feuillets plissés, la différence d'énergie est de $-1,9$ kcal/mole résidu. De plus les paramètres calculés $\underline{c}$ et $\underline{d_a}$ sont très voisins des paramètres expérimentaux. Cela suffirait à établir définitivement ce modèle. Mais, à l'aide des remarques générales que nous avons formulés sur les structures en feuillets plissés de polypeptides à chaînes latérales courtes (page 36), nous donnons un nouvel argument. En effet, non seulement les paramètres $\underline{c}$ et $\underline{d_a}$ calculés pour le modèle en feuillets plissés sont trop éloignés des valeurs expérimentales, mais encore la symétrie même de la maille expérimentale (monoclinique) devient incompatible avec l'existence d'un tel modèle.

II. Analyse de la structure du cristal de poly-L-alanine en feuillets plissés

La structure en feuillets plissés de la forme β de la poly-L-alanine a été déterminée avec précision par S. Arnott (5). Il est intéressant d'entreprendre des calculs conformationnels sur une telle structure pour diverses raisons. Tout d'abord cela permet de savoir jusqu'à quel point nous pouvons nous fier aux fonctions potentielles que nous utilisons. Ensuite, cette structure relativement simple permet d'entreprendre une étude systématique du rôle joué par les divers paramètres géométriques comme l'angle $\underline{\alpha}$ de rotation des chaînes sur leur axe, le déplacement relatif des chaînes $\underline{d_y}$, les déplacements relatifs des feuillets $\underline{d_a}$ et $\underline{d_b}$, la répétition axiale $\underline{b}$, la distance interfeuil-

	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)
χ (degrés)	-	58,2 ^(*)	55,3 ^(*)	55,4 ^(*)	55,6 ^(*)	57,5 ^(*)	55,1 ^(*)
α (degrés)	80	73,8 ^(*)	75,7 ^(*)	75,9 ^(*)	75,6 ^(*)	77,1 ^(*)	73,3 ^(*)
$\underline{dy}$ (Å)	-0,76	-0,32 ^(*)	-0,53 ^(*)	-0,54 ^(*)	-0,52 ^(*)	-0,55 ^(*)	-0,57 ^(*)
$\underline{db}$ (Å)	0,65	-	0,0 ^(*)	0,0 ^(*)	0,0	0,0 ^(*)	0,0
$\underline{a}$ (Å)	4,73	4,73	4,73	4,73	4,73	4,73	4,72
$\underline{b}$ (Å)	6,89	6,89	6,89	6,89	6,89	6,89	6,94
$\underline{c}_a$ (Å)	5,27	5,27	5,06 ^(*)	5,07 ^(*)	5,12 ^(*)	5,27	5,10 ^(*)
E_i (+)	-	-5,41	-3,42	-3,38	-2,60	-3,43	-3,73
E_f (+)	-	} -13,41	-6,29	-6,11	-4,46	-6,11	-6,05
E_R (+)	-		-5,82	-5,25	-4,51	-4,89	-4,99
E (+)	-	-18,82	-15,53	-14,74	-11,57	-14,43	-14,78

(*) Valeurs déterminées par optimisation de l'énergie

(+) en kcal/mole-résidu

TABEAU 8

- (a) Résultats de Arnott (5).
 (b) Résultats de Mac Guire (45).
 (c) Paramètres calculés. Réseau de 5 feuillets, coupure de 10 Å sur les interactions de Van der Waals. Paramètres a et b et géométrie du groupe amide donnés par Arnott (5). Potentiels de Scheraga.
 (d) Comme en (c) mais avec 3 feuillets et une coupure de 7 Å.
 (e) Comme en (d) mais avec les potentiels de Claverie.
 (f) Comme en (d) mais avec c fixé à la valeur cristallographique.
 (g) Comme en (d) mais avec la géométrie standard du groupe amide et les paramètres de la maille de Fraser (28).

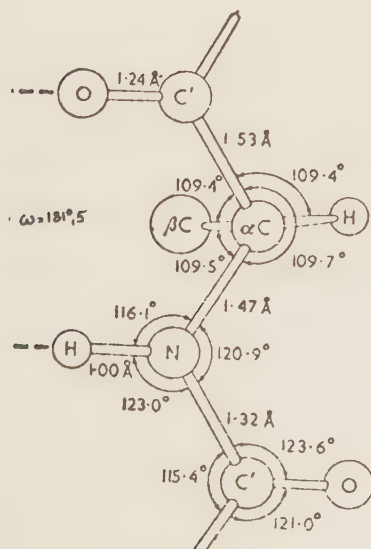


Figure 17

Géométrie du groupe peptide de Arnott (5)

let c. Les traits caractéristiques de la structure peuvent ainsi être mis en évidence. Les résultats de ces études "dynamiques" peuvent ensuite être fructueusement appliqués à l'étude de la poly-Alanine-glycine.

II. 1) Conduite des calculs

Les calculs ont été entrepris comme nous l'avons exposé dans le paragraphe VI page 36. L'unité asymétrique est constituée par deux groupements alanyl liés par liaison hydrogène. Les paramètres de la maille a et b ont été exclus de l'optimisation de l'énergie. Ils ont été fixés aux valeurs expérimentales données par la diffraction des rayons X (sauf dans un cas où l'on a effectué une variation systématique de b). Ces valeurs sont issues de deux sources :

- celles d'Arnott avec a = 4,73 Å, b = 6,89 Å, dans ce cas les paramètres définissant le groupe peptide sont ceux donnés par Arnott (5), (voir figure 17).
- celles de Fraser et coll. (28) avec a = 4,72 Å et b = 6,94 Å déterminées pour (Ala-Gly)_n. Dans ce cas les paramètres définissant le groupe peptide sont les paramètres standard de Scheraga (59) donnés dans la figure 4.

II. 2) Résultats

Nous avons rassemblé nos résultats ainsi que ceux d'Arnott et de Mc Guire dans le tableau 8 .

Dans un premier calcul, nous avons optimisé E en fonction des paramètres χ_1 , α , dy, db et c, les paramètres a et b étant fixés soit aux valeurs d'Arnott (colonnes c, d, e et f du tableau 8), soit à celles de Fraser (colonne g du tableau 8). Nous avons utilisé successivement les potentiels de Scheraga (colonnes c, d, f et g) et de Claverie

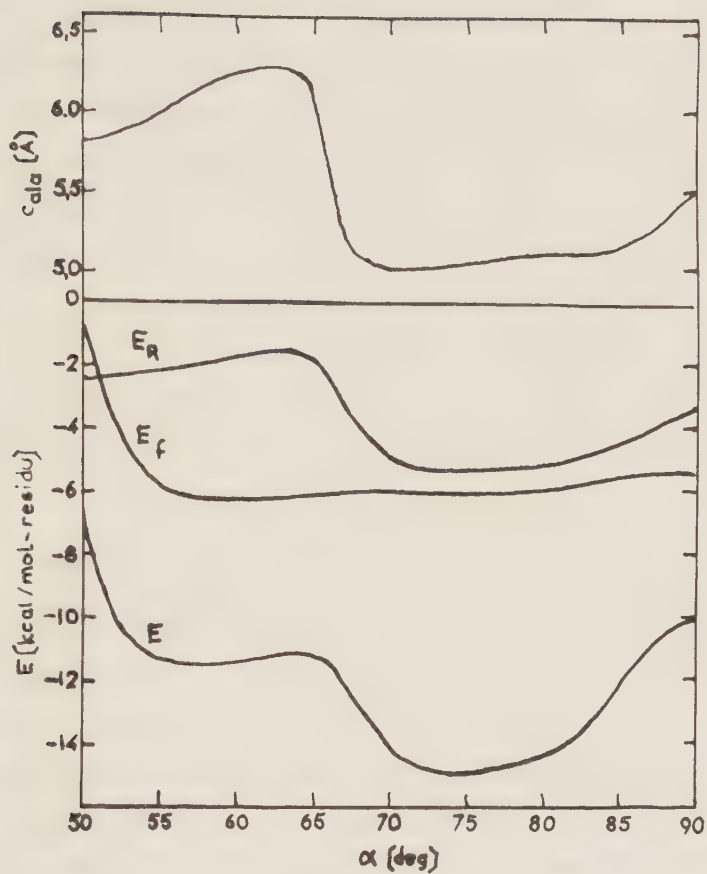


Figure 18

[Ala]_n. Résultats de l'optimisation de E pour différentes valeurs de α . χ_1 , $\underline{dy}$ et $\underline{e}$ sont optimisés. Les valeurs de $\underline{c}$ ainsi obtenues sont indiquées dans la courbe du haut.

(colonne c) (voir pages 21 et 22). Les résultats obtenus sont très voisins. Par la suite, nous avons travaillé exclusivement avec ceux de Scheraga pour l'homogénéité de nos résultats. La comparaison des paramètres obtenues par le calcul (colonne d du tableau 8) avec ceux obtenus par Arnott (colonne a) montre que la valeur de $\underline{c}$ calculée ($5,07 \text{ \AA}$) est un peu trop faible par rapport à la valeur expérimentale ($5,27 \text{ \AA}$). L'erreur n'est cependant que de 4 %. Dans un autre calcul (colonne f) la valeur de $\underline{c}$ est fixée à $5,27 \text{ \AA}$ et seuls χ_1 , $\underline{\alpha}$ et $\underline{dy}$ sont considérés comme variables. L'accord est, dans ce cas, très bon entre le calcul qui donne $\alpha = 77^\circ,1$ et les rayons X qui donnent $\alpha = 80^\circ$.

Les autres calculs sont résumés par des figures.

La figure 18 est obtenue en optimisant E par rapport à χ_1 , $\underline{dy}$ et $\underline{e}$ pour différentes valeurs de $\underline{\alpha}$. Elle indique que la valeur de cet angle est déterminée bien plus par les contacts méthyl-méthyl (E_R) que par la linéarité des liaisons hydrogènes : E_f , l'énergie des interactions du feuillet, est pratiquement indépendante de $\underline{\alpha}$. Ceci avait d'ailleurs déjà été montré par Mc Guire et coll. (45), cependant ces auteurs n'avaient pas effectué l'optimisation de E sur les variables χ_1 et $\underline{dy}$.

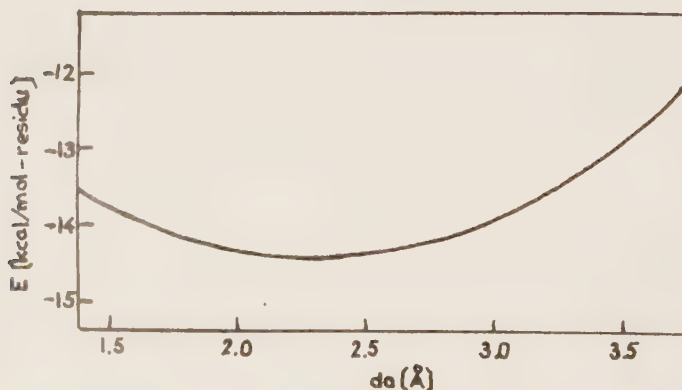


Figure 19
Optimisation de E pour diverses valeurs de d_a . χ_1 , α et dy sont optimisés. $c = 5,27 \text{ \AA}$.

La figure (19) donne la variation de la valeur minimale de $E(\chi_1, \alpha, dy)$ en fonction de d_a pour $\underline{c} = 5,27 \text{ \AA}$. Elle montre que les

feuillets de poly-L-alanine s'empilent dans un réseau quasi orthogonal (la valeur $\underline{da}^*$ correspondant au minimum de E est $\underline{da}^* = 2,31 \text{ \AA}$ au lieu de $2,365 \text{ \AA}$). La différence d'énergie correspondant à ces deux valeurs n'est que de $0,2 \text{ kcal/mole résidu}$.

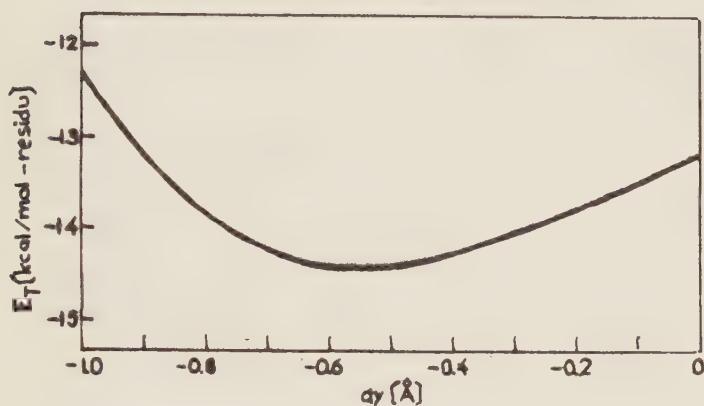


Figure 20

Optimisation de E pour diverses valeurs de dy .
 χ_1 et α sont optimisés.
 $c = 5,27 \text{ \AA}$.

La figure (20) obtenue en fixant $\underline{c}$ à $5,27 \text{ \AA}$ et en minimisant $E(\chi_1, \alpha)$ pour différentes valeurs de $\underline{dy}$, montre bien que les chaînes antiparallèles ont leurs $C\alpha$ décalés suivant $\overrightarrow{oy}$. Ce résultat est conforme à celui d'Arnott mais contredit le modèle de Pauling et Corey (50) (figure 6) fondé sur des liaisons hydrogènes linéaires.

La figure (21) obtenue par optimisation de E par rapport à $\chi_1, \alpha, \underline{dy}$, et $\underline{c}$ pour diverses valeurs de $\underline{b}$. Elle montre très bien que ni $\underline{c}$ ni E ne sont très affectés par une variation de $\underline{b}$ de $\pm 0,1 \text{ \AA}$, ce qui est bien confirmé par la dispersion des valeurs expérimentales rapportées par Fraser et Mac Rae (31), qui vont de $6,7$ à $7 \text{ \AA}$.

Un calcul de ce type avait été publié par Mc Guire et coll. (45), mais l'optimisation n'avait pas été faite ni sur χ_1 ni sur $\underline{c}$, si bien que la valeur qu'ils donnent pour $\underline{b}$ ($6,80 \text{ \AA}$) est moins proche que la nôtre ($6,90 \text{ \AA}$) de la valeur expérimentale ($6,89 \text{ \AA}$).

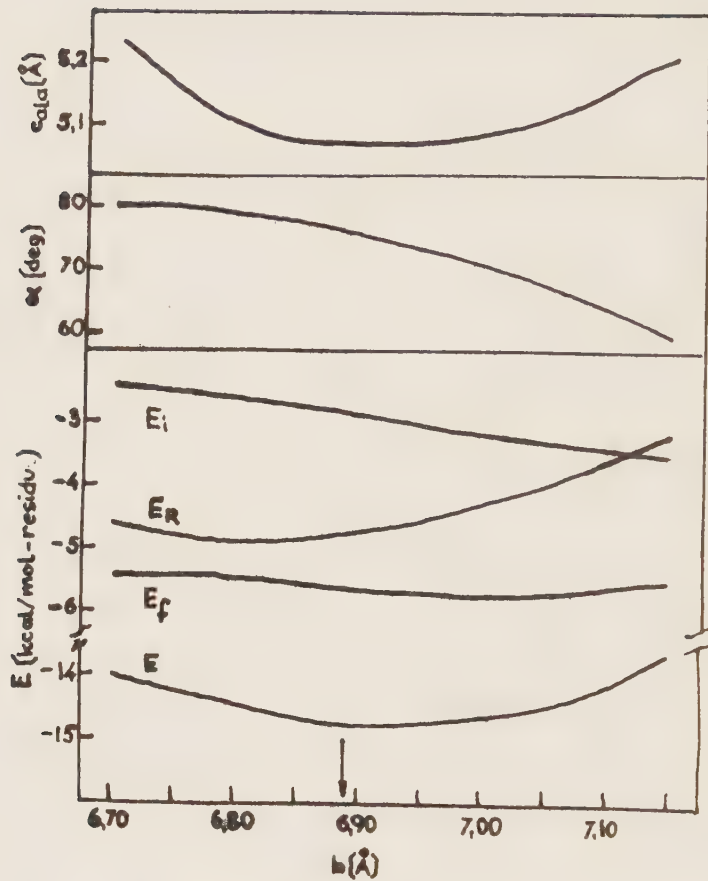


Figure 21

Optimisation de E par rapport à χ_1 , α , d et c pour diverses valeurs de la répétition axiale b . La flèche indique la valeur expérimentale ($6,89 \text{ \AA}$). Les courbes du haut donnent les valeurs de c et α ainsi obtenues.

	x (Å)	y (Å)	z (Å)
N	2,688	-0,948	0,143
	2,695	-0,837	0,130
H	3,673	-0,970	-0,046
	3,665	-0,857	-0,100
C _α	2,184	0,275	0,782
	2,225	0,383	0,790
H _α	1,096	0,338	0,639
	1,155	0,453	0,700
C _β	2,501	0,238	2,279
	2,605	0,353	2,280
C'	2,851	1,500	0,153
	2,855	1,608	0,130
O	4,074	1,537	-0,052
	4,065	1,638	-0,130

TABLE 9

Coordonnées de l'unité répétitive de la maille de symétrie $P_{2_1}2_12_1$. Les valeurs du haut sont celles du calcul d'énergie, celles du bas proviennent des résultats d'Arnott (5).

Les H_β qui ne peuvent être déterminés par rayons X n'ont pas été inclus.

Cette courbe confirme également un résultat déjà obtenu dans le cas de la polyglycine I en feuillets plissés : une variation du paramètre $\underline{b}$ entraîne une rotation des chaînes sur leur axe, ce qui explique la constance du paramètre $\underline{c}$.

II. 3) Conclusion

Les calculs d'énergie effectués sur la structure de la poly-L-alanine montrent à la fois les limites et les possibilités de cette technique d'analyse. La détermination d'un paramètre cristallin aussi important que la distance interfeuille $\underline{c}$ n'est faite qu'à 4 %. La faible valeur obtenue montre, entre autres, que les potentiels utilisés sous-estiment les forces de répulsion.

Néanmoins, si l'on considère les paramètres $\underline{a}$, $\underline{b}$, $\underline{c}$ de la maille comme une donnée, on peut déterminer les paramètres géométriques de la structure avec une bonne précision, par exemple l'angle α . Dans le présent exemple les plus grandes différences entre paramètres déterminés par rayons X et calcul d'énergie sont observées pour $\underline{dy}$ et $\underline{db}$ et entraînent des écarts de $0,1 \overset{\circ}{\text{\AA}}$ sur les coordonnées $\underline{y}$ des atomes de la maille (voir table 9). Le calcul d'énergie donne $\underline{db} = 0$, structure qui a une plus grande symétrie (groupe d'espace C_{222_1}) que celle proposée par Arnott ($P_{2_1 2_1 2_1}$ et $\underline{db} = 0,65 \overset{\circ}{\text{\AA}}$). Cependant, comme le fait remarquer cet auteur, les deux structures sont compatibles avec les données de rayons X et s'il préfère la symétrie $P_{2_1 2_1 2_1}$, pour des motifs marginaux, il admet que cette structure présente des contacts défavorables entre les groupes méthyl.

Les courbes que nous donnons permettent de prévoir le comportement de la structure en fonction de certaines perturbations comme un allongement du paramètre $\underline{b}$ par exemple. Les rayons X ne permettent évidemment pas de le faire.

III. Analyse conformationnelle de la structure du cristal de poly-L-alanine-glycine β

III. 1) Description du modèle

Le squelette des chaînes polypeptidiques de la structure en feuillets plissés de $(\text{Ala-Gly})_n$ est une hélice 2_1 identique à celle qui constitue le squelette de la poly-L-alanine β . Mais dans ce cas l'alternance régulière de résidus alanine et glycine le long de la chaîne fait qu'il est possible d'obtenir des feuillets β dans lesquels tous les résidus glycyll sont d'un même côté du feuillet et tous les alanyl de l'autre (Fraser et col. (27)). De plus, les faces constituées de glycine des feuillets successifs se font face, de même pour celles constituées d'alanine (voir figure ci-dessous). Les distances interfeuillets sont donc alternativement différentes puisqu'elles sont définies par des contacts glycine-glycine et alanine-alanine. Nous les définissons par les paramètres c_{gly} et c_{ala} (on a donc $c = c_{\text{ala}} + c_{\text{gly}}$).

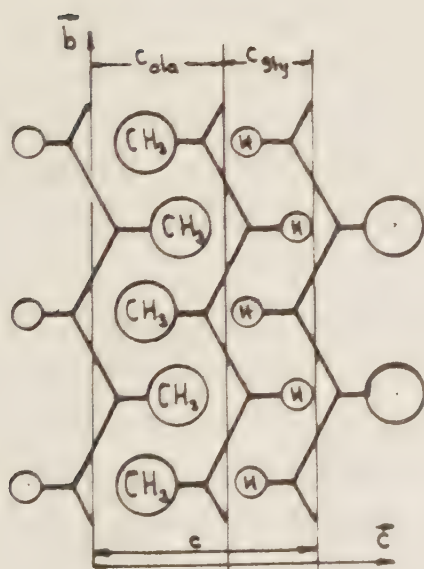


Figure 22

Schéma de l'empilement de feuillets plissés de $(\text{Ala-Gly})_n$ d'après Marsh (47).

III. 2) Position du problème

Alors que les rayons X ont permis de bien établir les distances interfeuillet dans les homopolymères $(Ala)_n$ et $(Gly)_n$, ils donnent pour ces mêmes distances des valeurs tout-à-fait inhabituelles lorsque ces mêmes peptides sont impliqués dans le copolymère $(Ala-Gly)_n$. Par exemple, en 1965 Fraser et coll. obtiennent $c_{ala} = 4,98 \text{ \AA}$, $c_{gly} = 3,89 \text{ \AA}$ ($c = 8,87 \text{ \AA}$), puis, après affinement de la maille, en 1966 $c_{ala} = 5,17 \text{ \AA}$, $c_{gly} = 3,79 \text{ \AA}$ ($c = 8,96 \text{ \AA}$). La distance c_{gly} est donc supérieure de $0,4 \text{ \AA}$ à $0,5 \text{ \AA}$ à celle déterminée pour la polyglycine I (cf. Marsh et col. (47), Fraser et coll (27), Fraser et Mac Rae (32)). Nous avons pensé tout d'abord (19) que cette différence était due en partie au fait que la polyglycine I est en feuillet ridés et non plissés (voir page 32). Les calculs que nous présentons ci-dessous apportent quelque lumière supplémentaire.

III. 3) Résultats

Les résultats ont été condensés dans le tableau 10, nous y rappelons également les résultats des calculs sur $(Ala)_n$ et $(Gly)_n$.

Les calculs ont été effectués comme nous l'avons décrit au chapitre I, paragraphe C-VI. L'unité asymétrique est constituée par deux couples de résidus alanine-glycine liés dans le feuillet par liaisons hydrogènes. Les paramètres de la minimisation de l'énergie du cristal E sont alors (en suivant les définitions de la page 33) : χ_1 , $\underline{\alpha}$, $\underline{dy}$, $\underline{db}$, $\underline{c}_{gly}$ et $\underline{c}_{ala}$.

Dans un premier calcul une minimisation globale est effectuée. Les paramètres $\underline{a}$ et $\underline{b}$ de la maille sont fixés aux valeurs données par Fraser en 1966 (28) (colonne g, table 10). Les résultats du calcul sont indiqués dans la colonne d. Ils montrent que la valeur calculée pour $\underline{c}$ ($8,72 \text{ \AA}$) est plus faible que la valeur expérimentale ($8,96 \text{ \AA}$) comme pour $(Ala)_n$. Ce calcul permet une comparaison avec les résultats des calculs effectués sur $(Ala)_n$ et $(Gly)_n$.

TABLEAU 10

	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)
χ	-	-	55,1°(*)	54,2°(*)	-	54,9°(*)	-	55,7°(*)
α	76°(*)	60°(*)	73,3°(*)	69,9°(*)	-	71,1°(*)	-	72,7°(*)
d_y (Å)	- 0,7	-0,45(*)	-0,57(*)	-0,56(*)	-	-0,58(*)	-	-0,58(*)
$\underline{a}$ (Å)	4,77	4,77	4,72	4,72	4,71	4,71	4,72	4,72
$\underline{b}$ (Å)	7,044	6,96	6,94	6,94	6,95	6,95	6,94	6,94
$\underline{c}$ (Å)	-	-	-	8,72(*)	8,87	8,87	8,96	8,96
$\underline{c}_{gly}$ (Å)	3,35(*)	3,55(*)	-	3,70(*)	3,89	3,79(*)	3,79	3,83(*)
$\underline{c}_{ala}$ (Å)	-	-	5,10	5,02(*)	4,98	5,08(*)	5,17	5,13(*)
E_T	-12,01(+)	-11,01(+)	-14,78	-15,32	-	-15,20	-	-15,24
kcal/ mole-résidu								

(*) Valeurs déterminées par optimisation de l'énergie.

(+) N'inclue pas l'énergie intramoléculaire des chaînes.

- (a,b) Paramètres calculés pour les feuilletés ridés (colonne a) et plissés (colonne b) de polyglycine I.
- (b) Paramètres structuraux calculés pour la poly-L-alanine.
- (d) Paramètres calculés pour $(Ala-Gly)_n$ avec le groupe peptide standard, les paramètres $\underline{a}$ et $\underline{b}$ sont ceux de Fraser et coll. (1966) (cf. colonne g). $\underline{c}_{ala}$ et $\underline{c}_{gly}$ sont optimisés.
- (e) Résultats de Fraser et coll. (1965).
- (f) Résultats du calcul utilisant les paramètres de la colonne e.
- (g) Maille de Fraser et coll. (1966). Valeurs de $\underline{c}_{ala}$ et $\underline{c}_{gly}$ déterminées par Fraser et Mc Rae (1973) (33).
- (h) Valeurs calculées en utilisant les paramètres de la maille de la colonne (g).

On notera que la valeur de l'énergie E est très voisine de celles obtenues pour $(Ala)_n$ et $(Gly)_n$ (environ - 15 kcal/mole résidu). Les interactions Ala-Ala et Gly-Gly contribuent donc pour une part égale à l'énergie totale de la structure. Par conséquent il est possible d'effectuer un deuxième type de calcul dans lequel le paramètre $\underline{c}$ est fixé à sa valeur expérimentale (8,96 Å ou 8,87 Å), tandis que $\underline{c}_{ala}$ (donc $\underline{c}_{gly}$) est conservée comme variable de l'optimisation de E : les erreurs dues à l'imperfection des potentiels ne devraient pas alors affecter beaucoup la partition de $\underline{c}$ entre $\underline{c}_{ala}$ et $\underline{c}_{gly}$.

Ces calculs ont été effectués avec les paramètres de la maille (a , b et c) déterminés par Fraser en 1965 puis avec ceux donnés en 1966. Les résultats figurent dans la table 10 colonne f et h. Pour $\underline{c} = 8,87$ Å (Fraser 1965) on a $\underline{c}_{ala} = 5,08$ Å ($\underline{c}_{gly} = 3,89$ Å) et pour $\underline{c} = 8,96$ Å (Fraser 1966) on a $\underline{c}_{ala} = 5,13$ Å ($\underline{c}_{gly} = 3,83$ Å). Ces valeurs sont directement comparables à celles déterminées par rayons X.

III. 4) Discussion des résultats

Ayant étudié par l'analyse conformationnelle les structures β de $(Ala)_n$ et $(Gly)_n$, on peut maintenant analyser plus finement la structure β de $(Ala-Gly)_n$, étroitement liée à celle de la fibroïne de la soie du Bombyx Mori.

III. 4-1) Origine des distances interfeuillets

Comme on peut le voir dans la colonne d de la table 10, la distance $\underline{c}_{gly}$ calculée pour $(Ala-Gly)_n$ (3,70 Å) est plus grande que celle calculée pour une hypothétique structure en feuillets plissés de polyglycine β (3,55 Å) et a fortiori que celle obtenue pour les feuillets ridés. Par ailleurs la distance $\underline{c}_{ala}$ (5,02 Å) est légèrement inférieure à celle calculée pour $(Ala)_n$, (5,10 Å).

On peut établir l'origine de ces écarts en examinant les résultats des calculs effectués sur ces trois polypeptides.

La colonne d de la table 10 montre que la position angulaire des chaines ($\alpha \neq 70^\circ$) dans $(\text{Ala-Gly})_n$ est assez différente de celle trouvée pour la polyglycine en feuillets plissés (colonne b : $\alpha = 60^\circ$).

En fait, la valeur de α calculée pour $(\text{Ala-Gly})_n$ correspond à la limite inférieure compatible avec une structure stable de $(\text{Ala})_n$ (cf. figure 18) et est déterminée par les interactions de la partie alanyl du feuillet : ces interactions imposent une structure du feuillet différente de celle correspondant à la plus basse énergie du feuillet plissé de polyglycine. Autrement dit, les interactions gly-gly dans $(\text{Ala-Gly})_n$ β correspondent à une situation défavorable (de plus grande énergie) dans une structure défavorable (feuillet plissé) du feuillet de polyglycine. Ceci a donc pour rôle d'accroître c_{gly} .

Par contre, dans $(\text{Ala-Gly})_n$ c_{ala} est un peu plus faible que c dans $(\text{Ala})_n$ (table 10 colonne c et d). Ceci provient encore de la faible variation en α (70° au lieu de 73°) ; la figure 18 montre qu'en effet pour 70° la valeur correspondant de c_{ala} est plus faible que pour 73° .

La structure stable calculée pour $(\text{Ala-Gly})_n$ en utilisant le modèle de Fraser et coll. apparaît donc comme un compromis entre la structure en feuillets plissés de $(\text{Ala})_n$ et celle, hypothétique, de $(\text{Gly})_n$. Ces calculs montrent que les distances interfeuillets du polypeptide doivent différer de celles des homopolymères correspondants. Toutefois, dans les précédents calculs où c n'est pas fixé, les valeurs de c_{ala} et c_{gly} sont légèrement sous-estimées.

III. 4-2) Discussion des deux modèles de Fraser

Pour discuter la validité des modèles proposés par Fraser il est nécessaire de se reporter à notre deuxième type de calcul où la distance c est fixée à la valeur cristallographique. Les valeurs calculées ainsi pour c_{ala} et c_{gly} sont susceptibles de bien refléter la réalité (voir justification plus haut). La partition du paramètre c déter-

minée par rayons X (1965 : colonne e, 1966 : colonne g) et par calcul d'énergie (colonnes f et h), montre que la valeur $c_{ala} = 4,98 \text{ \AA}$ donnée par Fraser en 1965 est incompatible avec une structure régulière : elle est plus basse que la valeur calculée, déjà fortement sous-estimée ($5,02 \text{ \AA}$). Par contre les valeurs $c_{gly} = 3,79 \text{ \AA}$ et $c_{ala} = 5,17 \text{ \AA}$ publiées en 1973 (33) sont tout à fait compatibles avec nos propres valeurs $c_{gly} = 3,83 \text{ \AA}$ et $c_{ala} = 5,13 \text{ \AA}$.

Nous donnons dans la table 11 les coordonnées atomiques correspondant à cette structure.

Ala	x	y	z
N	0,271	-1,247	-0,146
H	1,255	-1,245	0,035
C _α	-0,231	0	-0,740
H _α	-1,308	0,094	-0,541
C _ρ	0,008	-0,022	-2,251
H _ρ	-0,584	-0,831	-2,705
H _β	1,076	-0,193	-2,452
H _β	-0,297	0,942	-2,085
Gly	x	y	z
C'	0,507	1,191	-0,125
O	1,728	1,148	0,083
N	-0,271	2,223	0,140
H	-1,255	2,225	-0,035
C _α	0,231	3,47	0,740
H _α	1,308	3,504	0,541
H _α	0,059	3,454	1,826
C'	-0,507	4,601	0,125
O	-1,728	4,018	-0,083

TABLE 11

Coordonnées atomiques du résidu Ala-Gly dans la structure en feuillet plissé.

III. 4-3) Possibilité de désordre

Lotz et coll. ont suggéré (43) que le cristal réel pouvait contenir une petite quantité de chaînes ayant leurs groupes méthyl situés dans les faces glycy de la structure. Ils pensaient qu'un tel désordre en accroissant la distance c_{gly} et en diminuant la distance c_{ala} , pouvait rendre compte du phénomène dont nous venons de donner une autre explication. Nous avons voulu savoir comment la structure allait réagir à un tel désordre. Nous avons donc fait un calcul avec une des deux chaînes centrales tournée de 180° autour de son axe et translatée de $b/2$ selon $\vec{oy}$. Sa position angulaire est alors définie par le paramètre β et sa translation relative le long de $\vec{oy}$ par un nouveau paramètre $\underline{dy'}$ différent de $\underline{dy}$. (Figure 23)

La structure stable obtenue donne $\underline{dy'} \approx 0 \text{ \AA}$ et $\beta = 85^\circ$: la chaîne désorientée s'est tournée sur son axe de façon à rapprocher ses groupes méthyl du plan du feuillet. Par conséquent, les distances interfeuillet sont peu perturbées par ce défaut et le calcul leur donne même des valeurs légèrement plus basses que dans le cas du réseau régulier : $\underline{c_{ala}} = 5,0 \text{ \AA}$ et $\underline{c_{gly}} = 3,65 \text{ \AA}$ au lieu de $5,02 \text{ \AA}$ et $3,70 \text{ \AA}$ respectivement. L'angle α est peu affecté ($69^\circ,4$ au lieu de $69^\circ,9$), mais

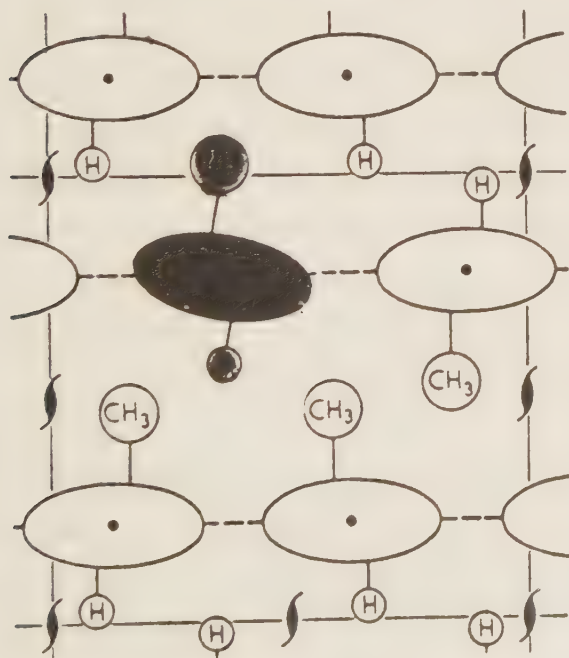


Figure 23

Schéma du réseau comportant une chaîne désorientée.

le déplacement relatif des chaînes antiparallèles dy vaut maintenant $- 0,48 \text{ \AA}$, l'énergie E ne change guère ($- 15,55 \text{ kcal/mole résidu}$).

Ce calcul, qui est simplifié à l'extrême, suggère cependant qu'un tel désordre, s'il n'est pas nécessaire pour rendre compte des distances interfeuillets, est néanmoins possible.

III. 4-4) Corrélation avec la structure de la soie du Bombyx Mori

Les calculs reportés dans la table 10 pour $(\text{Ala-Gly})_n$ ont quelques liens avec les problèmes relatifs à la structure de la soie du Bombyx Mori. La séquence chimique de la fibroïne de la soie est en effet du type $(\text{Gly-X})_n$ avec X représentant soit Ala soit Ser. De plus la structure de sa forme β , proposée par Marsh et coll. (47) est essentiellement semblable à celle de $(\text{Ala-Gly})_n$, excepté que les auteurs donnent pour $\underline{c_{\text{ala}}}$ et $\underline{c_{\text{gly}}}$ $5,7 \text{ \AA}$ et $3,5 \text{ \AA}$ respectivement.

Fraser a montré récemment à partir de l'analyse du cliché de rayons X qu'une distance $\underline{c_{\text{gly}}}$ de $3,87 \text{ \AA}$ améliorerait le modèle. La valeur de cette distance provient très certainement de contacts défavorables sur les faces glycyI des feuillets comme pour $(\text{Ala-Gly})_n$. La petite différence ($3,79 \text{ \AA}$ contre $3,87 \text{ \AA}$) entre les valeurs de $\underline{c_{\text{gly}}}$ obtenues pour le polydipeptide et la protéine est difficile à analyser. Elle peut être due à la présence des groupements seryl qui modifieraient légèrement le bilan énergétique de la structure. Plus simplement, le modèle utilisé par Fraser pour calculer les intensités de la protéine étant très simplifié (séquence $(\text{Ala-Gly})_n$), cela peut introduire une certaine erreur sur les valeurs obtenues pour $\underline{c_{\text{ala}}}$ et $\underline{c_{\text{gly}}}$.

III. 5) Conclusion

Le calcul conformationnel confirme le modèle en feuillets plissés antiparallèles proposé par Marsh et coll. pour la fibroïne de la soie du Bombyx Mori et appliqué ensuite par Fraser et coll. au modèle correspondant $(\text{Ala-Gly})_n$. Les valeurs de $3,8 \text{ \AA} - 3,9 \text{ \AA}$ pour les in-

teractions glycine-glycine déterminées par Fraser et coll. pour la fibroïne et qui apparaissaient incompréhensibles, étant donné les valeurs obtenues à partir de la polyglycine I, sont maintenant expliquées. Les interfaces contenant les groupements alanyl et seryl imposent une structure du feuillet (notamment une orientation des chaînes) telle que les contacts glycy-l-glycy-l deviennent défavorables, ce qui entraîne un accroissement de c_{gly} .

Ce calcul nous permet en outre de proposer pour la structure de $(Ala-Gly)_n$ des coordonnées atomiques (table 11) qui, comme pour la poly-L-alanine, ont une précision supérieure à 0,1 Å. Une étude structurale aussi précise n'aurait pas été possible par les rayons X étant donné la pauvreté des clichés.

IV. Analyse conformationnelle du modèle en feuillets "β contracté" de la poly(L-alanine-glycine) ou poly(L-alanine-glycine) II

IV. 1) Introduction

Brack et Spach ont obtenu avec le copolypeptide $(Ala-Gly)_n$, un nouveau type de structure en feuillets grâce à des conditions de cristallisation particulières (dialyse dans une solution de LiBr). Des données sur la géométrie de la maille cristalline ont été obtenues par diffraction des électrons sur des monocristaux par Lotz et Keith en 1971 (41). Les paramètres de la maille orthorhombique ($a = 4,72$ Å, $b = 9,4$ Å, $c' = 14,4$ Å⁽¹⁾) suggèrent que la structure est une structure à feuillets formés de chaînes liées par des liaisons hydrogènes. Les modèles de structure proposés pour les chaînes sont fondés sur une alternance de conformations α et β . Plusieurs modèles de ce type peuvent être envisagés. Ils rendent tous compte de l'accroissement de la distance interfeuillet ($7,2$ Å) et de la réduction de la distance de répétition sur l'axe des chaînes ($9,4$ Å pour quatre ré-

(1) Le ' sur le paramètre c indique que ce paramètre est différent de la distance interfeuillet c que nous avons définie précédemment (en fait ici $c' = 2 c$).

sidus peptidiques). La pauvreté des clichés de diffraction ne permet toutefois pas de trancher entre ces variantes ou même de prouver sans équivoque leur validité. C'est pourquoi nous avons entrepris en collaboration avec B. Lotz, des calculs conformationnels sur ces différents modèles.

IV. 2) Description des modèles

IV. 2-1) La chaîne polypeptidique

La conformation de chaque chaîne est donc une alternance régulière de résidus peptidiques de conformation α et β . La conformation α pouvant être en hélice droite α_D ou gauche α_G . Chaque chaîne est une hélice 2_1 dont l'unité répétitive est constituée par un résidu dipeptide (Ala-Gly).

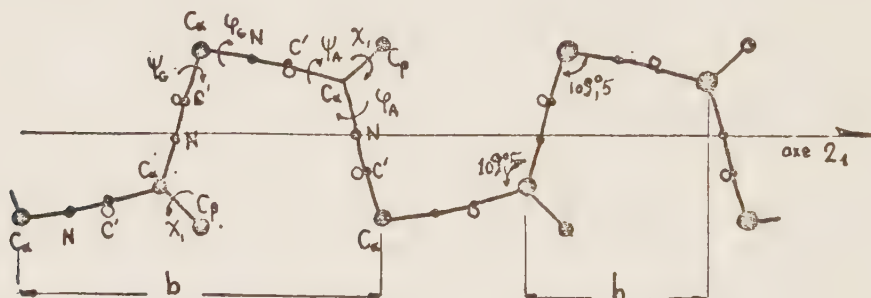


Figure 24

Chaîne polydipeptidique $(\text{Ala-Gly})_n$ en conformation β contracté ou "vibrequin"

Nous désignerons par φ_A , ψ_A les angles φ , ψ des résidus alanine et pour φ_G , ψ_G ceux des résidus glycine. Les angles ω et τ sont maintenus constants ($\omega = 180^\circ$ et $\tau = 109^\circ,5$). Ces paramètres sont représentés sur la figure 24.

Le paramètre $\underline{h}$ de l'hélice 2_1 est donné par l'étude cristallographique ($h = b/2 = 4,7 \text{ \AA}$). En utilisant la méthode décrite page 28 nous avons exprimé φ_A et ψ_A en fonction de $\underline{h}$, $\underline{\theta}$, φ_G et ψ_G . Les seules variables définissant, dans le programme d'optimisation de l'énergie, la géométrie de la chaîne sont donc φ_G , ψ_G et χ_1 . l'angle de rotation autour de la liaison $C_\alpha - C_\beta$ des résidus alanine.

IV. 2-2) Les feuillets

Les feuillets sont dus, comme dans le cas des chaînes β , à la formation de liaisons hydrogènes entre chaînes, qui peuvent être aussi bien parallèles qu'antiparallèles.

Les paramètres $\underline{a}$, $\underline{\alpha}$, $\underline{\beta}$ et $\underline{dy}$ sont ceux définis à la page 33. Le paramètre $\underline{a}$ est fixé à la valeur cristallographique $\underline{a} = 4,72 \text{ \AA}$.

Nous avons effectué des calculs sur quatre types de feuillets numérotés de 1 à 4 et définis par la conformation des paires de chaînes consécutives (chaîne 1 et chaîne 2) qui les constituent :

Désignation et type du feuillet		chaîne 1		chaîne 2	
		Ala	Gly	Ala	Gly
AGA 1	antiparallèle	β	α_G	β	α_D
AGA 2	antiparallèle	β	α_G	α_D	β
AGP 3	parallèle	β	α_G	β	α_G
AGP 4	parallèle	β	α_D	β	α_D

Un feuillet antiparallèle (désigné par le suffixe A) est donc défini par les paramètres suivants :

$$\underbrace{\varphi_A^1, \psi_A^1, \varphi_G^1, \psi_G^1, \chi_1^1}_{\text{chaîne 1}}, \quad \underbrace{\varphi_A^2, \psi_A^2, \varphi_G^2, \psi_G^2, \chi_1^2}_{\text{chaîne 2}}, \quad \alpha, \beta \text{ et } dy$$

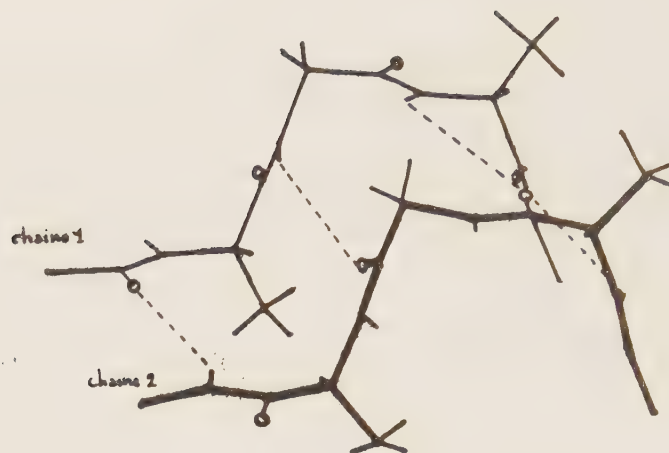


Figure 25

Feuillet antiparallèle : chaînes 1 et 2

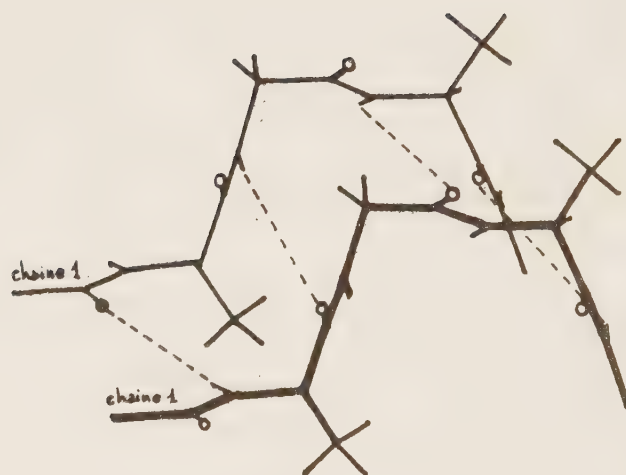


Figure 26

Feuillet parallèle : chaîne 1 seule

Dans un feuillet parallèle (suffixe P) les chaînes 1 et 2 sont nécessairement identiques (voir figures 25 et 26). De ce fait, on peut admettre que $\alpha = \beta$ et $dy = 0$. On n'a donc plus que les paramètres : $\varphi_A, \psi_A, \varphi_G, \psi_G, \chi_1$ et α pour le définir.

IV. 2-3) Les réseaux

Deux types de réseaux peuvent être envisagés, voir (42).

1. Le réseau à feuillets anticlines

Dans ce réseau on passe d'un feuillet au suivant par un axe hélicoïdal 2_1 perpendiculaire au plan des feuillets.

Les deux feuillets anticlines premiers voisins d'un feuillet donné sont déplacés par rapport à lui de $\underline{da}$ selon $\vec{ox}$ et de $\underline{db}$ selon $\vec{oy}$. En outre, ils lui sont distants de $\underline{c}$ selon $\vec{oz}$. Un tel réseau sera désigné par le suffixe A.

2. Le réseau à feuillets synclines

On passe ici d'un feuillet aux deux premiers voisins par une translation de $\underline{da}$ suivant $\vec{ox}$, $\underline{db}$ suivant $\vec{oy}$, $\underline{c}$ et $-\underline{c}$ suivant $\vec{oz}$. Le suffixe S désignera ce type de réseau.

La maille expérimentale étant orthorhombique, nous avons fixé $\underline{da}$ à la valeur $a/2 = 2,36 \text{ \AA}$.

Les calculs sont effectués sur un réseau de trois feuillets superposés.

Nous avons vérifié que la position du minimum de l'énergie E n'est pas modifiée lorsque l'on prend cinq feuillets. L'unité asymétrique est constituée ici par un couple de résidus dipeptides Ala-Gly liés par des liaisons hydrogènes, soit quatre unités peptidiques.

IV. 3) Résultats

La minimisation de l'énergie est obtenue en utilisant la méthode de Powell sans gradient (voir page 38). Le nombre total de variables dans le cas de feuillets antiparallèles est donc de 11 soit :

$$\varphi_G^1, \psi_G^1, \chi_1^1, \alpha, \varphi_G^2, \psi_G^2, \chi_1^2, \beta, dy, c \text{ et } db$$

dans le cas de feuillets parallèles on n'a plus que 6 variables :

$$\varphi_G^1, \psi_G^1, \chi_1^1, \alpha, db \text{ et } c.$$

La distance c , bien que connue expérimentalement, est considérée comme une variable afin d'apprécier la validité d'un modèle donné. L'optimisation de E doit donner une valeur de c inférieure ou égale à la valeur expérimentale (7,2 Å) pour que le modèle soit considéré comme plausible.

* Stratégie du calcul

Lors de l'optimisation de l'énergie des réseaux de feuillets antiparallèles, les variables ont été regroupées en deux sous-ensembles :

i) d'une part celles qui permettent de définir le feuillet avec :

$$\varphi_G^1, \psi_G^1, \varphi_G^2, \psi_G^2, \alpha, \beta \text{ et } dy$$

ii) d'autre part, celles permettant de définir les interactions entre feuillets avec :

$$\chi_1^2, \chi_1^2, c \text{ et } db.$$

L'optimisation est alors effectuée tout d'abord sur $E_{ff} = E_i + E_f$ et le premier ensemble de variables puis sur E et toutes les variables.

Ce procédé est justifié dans le cas présent par le fait que les 4/5 de l'énergie du réseau proviennent de E_{ff} ce qui était prévisible, étant donnée la géométrie des chaînes. Cependant la seule optimisation de E_{ff} ne suffit pas à trouver la conformation finale obtenue par optimisation de E .

Pour chacun des huit réseaux AGA 1S, AGA 1A etc... nous effectuons deux optimisations de E en partant des points $\underline{db} = 0 \text{ Å}$ et $\underline{db} = 4,7 \text{ Å} = b/2$ qui sont deux arrangements possibles séparés par une haute barrière de potentiel.

	AGA1A		AGA1S		AGA2A		AGA2S
db $\overset{\circ}{\text{A}}$	0,05	5,03	0,02	4,71	0,0	/	/
c $\overset{\circ}{\text{A}}$	7,33	7,16	7,28	7,32	7,66		
E *	-11,49	-12,88	-10,90	-10,30	-11,92		

	AGP3A		AGP3S		AGP4A		AGP4S
db $\overset{\circ}{\text{A}}$	0,10	5,29	2,90	6,61	-0,2	4,40	/
c $\overset{\circ}{\text{A}}$	7,17	7,01	7,29	7,21	7,31	7,29	
E *	-12,66	-13,80	-12,25	-12,05	-10,82	-12,54	

	ψ_A (deg)	ψ_A (deg)	ψ_G (deg)	ψ_G (deg)	α (deg)	E_i^*	E_f^*	E_{ff}^*	E_R^*
AGA1A db $\cong 5,03 \text{ \AA}$	chaîne 1						-7,5	-10,24	-2,65
	-104,6	112,2	79,8	49,7	73,6	-3,24			
	chaîne 2								
	-124,5	88,2	-49,8	-76,1	$\beta = -84,1$	-2,24			
AGP3A db = 0,1 $\text{ \AA}$	- 94,2	126,2	60,8	54,5	84,8	-3,55	-6,31	- 9,86	-2,81
AGP3A db = 5,29 $\text{ \AA}$	- 97,6	102,0	83,8	57,4	88,4	-3,78	-6,89	-10,67	-3,14
AGP3S db = 6,31 $\text{ \AA}$	- 96,7	128,9	60,0	52,6	83,7	-3,56	-6,23	- 9,79	-2,28

* en kcal/mole-résidu

TABLE 12

Résultats des calculs sur (L Ala-Gly)_{II}

Par ailleurs l'interdépendance des variables $\varphi, \psi, \alpha, \delta, c$ et δb est telle qu'il nous a souvent fallu partir de valeurs initiales différentes : l'optimisation convergait vers des valeurs de α et β absurdes.

* Structures obtenues

Nous avons rassemblé dans le tableau 12 les paramètres de 11 structures obtenues par cette méthode. Les blancs indiquent qu'aucune structure d'énergie négative n'a pu être atteinte pour des valeurs raisonnables de c .

Nous avons fait figurer l'énergie de formation du feuillet $E_{ff} = E_i + E_f$, pour permettre des comparaisons avec celle du feuillet plissé du même copolypeptide.

On remarquera que les chaînes 1 et 2 des feuillets antiparallèles adoptent des conformations d'énergie assez différente, car les résidus alanine adoptent des conformations β situées dans des régions distinctes du domaine β .

IV. 4) Discussion des résultats et conclusion

Au cours de cette étude, nous avons rencontré une difficulté nouvelle : l'énergie E comporte de nombreux minima secondaires du fait de la grande interdépendance des variables. Nous ne pouvons donc pas être certains d'avoir examiné toutes les structures possibles. Si d'autres structures de la même famille existaient, elles ne pourraient cependant être guère différentes de celles que nous avons établies : les diverses possibilités d'arrangement des chaînes étudiées sont limitées.

En gardant à l'esprit ces restrictions, nous pouvons cependant tirer certaines conclusions des calculs résumés dans le tableau 12 .

- i) Certains des modèles qui avaient été jugés possibles par une simple analyse qualitative apparaissent peu probables. Il en est ainsi des

modèles du type AGA 2 comportant un résidu alanine en conformation α . Dans le seul cas (AGA2S avec $db = 0$) où l'énergie est négative, la distance interfeuillet est beaucoup trop forte ($7,66 \text{ \AA}$). Nous n'avons donc pas estimé nécessaire d'entreprendre d'autres calculs sur des structures semblables comportant des chaînes où les résidus alanyl sont en conformation α .

D'autre part, le modèle AGP 2 S, en feuillets parallèles synclines, construit avec la séquence $(\beta \text{ Ala} - \alpha_D \text{ Gly})_n$, est lui aussi improbable.

ii) Il ne reste donc, de l'ensemble des modèles qui avaient été envisagés, que trois modèles possibles :

AGA1A, AGP3A et AGP3S .

Ces structures ont des valeurs de c voisines de $7,2 \text{ \AA}$ et des valeurs de E satisfaisantes. La structure réelle pourrait alors se comprendre comme un mélange de ces trois structures.

Au vu de nos résultats, la structure AGP3A semble la plus probable puisqu'elle a l'énergie minimale. L'examen des différentes composantes de cette énergie révèle que l'énergie de ce type de chaîne, dans laquelle les résidus glycyll sont en conformation α_G , est nettement plus basse que celle des chaînes où les résidus glycyll sont en conformation α_D comme dans AGP 4.

D'autre part, les feuillets du type AGP 3 A admettent deux empaquetages pratiquement isoénergétiques ($db = 0,1 \text{ \AA}$ et $db = 5,3 \text{ \AA}$) décalés d'environ $b/2$. Cette caractéristique, qui suggère un désordre de $db = \pm b/2$, expliquerait la faiblesse ou l'absence de réflexions sur les strates impaires, l'axe des chaînes étant l'axe de fibre.

Enfin, cette structure semble mieux rendre compte des intensités expérimentales déterminées dans le cliché de poudre (Lotz et Keith (41)).

Cette structure est formée de chaînes parallèles ; cette caractéristique semble, à première vue, difficile à réconcilier avec la morphologie

observée de la poly(L-Ala-Gly)II : les cristaux lamellaires formés lors de la précipitation comportent en effet des chaînes repliées. Dans le cas de feuilletts à chaînes parallèles, cela implique un repliement anticline des feuilletts. Un tel repliement est tout-à-fait possible. Il suffit pour cela de supposer que, dans un feuillet, tous les résidus glycyli situés sur une même rangée parallèle à l'axe $\vec{a}$ adoptent une conformation en hélice α énantiomorphe de celle des autres résidus glycyli. On obtient ainsi, avec assez peu de distortions, le repliement illustré par la photographie suivante :



La chaîne supérieure, repliée vient se placer entre les deux chaînes inférieures pour satisfaire les exigences de la maille orthorhombique ($d_a = a/2$).

Cette structure à chaînes parallèles et feuillets anticlines serait donc capable d'expliquer toutes les données expérimentales. Cependant, cela n'exclut pas qu'il puisse y avoir un certain mélange des diverses structures stables dans le cristal réel : la pauvreté des données de diffraction semble bien témoigner dans ce sens.

- iii) La comparaison de ces modèles avec la structure en feuillets plissés du même poly-dipeptide est également intéressante. Elle montre que, si l'énergie E_i des chaînes isolées est meilleure pour la structure β (-4,5 kcal/mole résidu), l'énergie de formation du feuillet E_{ff} est légèrement meilleure dans le cas de la poly(Lala-gly)II (- 10,5 kcal/mole résidu au lieu de - 10).

Il faut remarquer toutefois que les minima d'énergie de cette structure sont étroits ce qui la rend entropiquement peu favorable. On peut donc concevoir que, dans des conditions de précipitation douces et lentes (dialyse de solution) ou dans le cas de la glande du ver à soie (séchage sans tension), on obtienne cette forme cristalline (Kratky (39)). Par contre, lors du filage qui implique un étirement, il est raisonnable d'attendre la structure la plus stable, c'est-à-dire la forme β .

CHAPITRE III - RAFFINEMENT D'UNE STRUCTURE DE POLYPEPTIDE :
ETUDE DE L'HELICE α DE LA POLY-L-METHIONINE

I. Introduction

La poly-L-méthionine est un polypeptide connu pour donner en solution dans le chloroforme des hélices α qui servent d'étalon pour la mesure de l'hélicité par les méthodes de dispersion optique rotatoire ($b_0 \neq -600$), Shechter et Blout (61) et Bloom et coll. (12). Un autre intérêt de ce polypeptide est qu'il porte un atome de soufre sur la chaîne latérale. Ceci, a priori, doit faciliter l'étude cristallographique de cette chaîne.

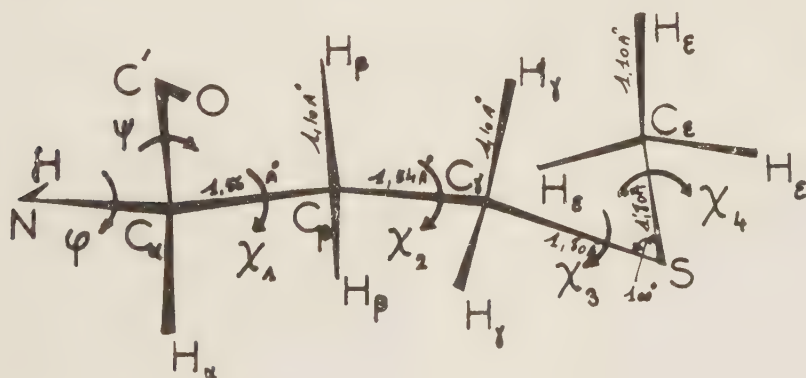


Figure 28

Résidu méthionyl

Jusqu'à présent, le problème de la détermination des conformations des chaînes latérales de polypeptides en hélice α n'a été abordé que par peu de chercheurs. Vainshtein (68) a donné une structure du poly- γ -methyl-L-glutamate en projection équatoriale à partir d'une analyse de Fourier des réflexions équatoriales de très bons clichés de diffraction électronique. Par ailleurs, Takeda et coll. (65)

se sont attaqués à ce problème à partir de méthodes purement cristallographiques (Patterson cylindrique, synthèses de Fourier) et spectrographiques (dichroïsme infra-rouge). Ces derniers auteurs ont donné les coordonnées des atomes d'une chaîne latérale de l'hélice α du polychloro-benzyl-L-aspartate, mais leur modèle ne reflète pas certains aspects importants du diagramme de diffraction des rayons X (réflexion méridienne sur la 6^e strate, qui implique des conformations différentes pour trois chaînes latérales consécutives, voir plus loin page 84).

Une autre équipe, J. P. Baldwin et coll. (7), a entrepris des études analogues sur le poly(β -benzyl-L-aspartate) dans sa forme α (hélice 4/1). Ces auteurs ont obtenu les coordonnées des atomes de l'unité asymétrique en s'appuyant sur des clichés de diffraction électronique et en optimisant l'accord entre les intensités théoriques et expérimentales.

Par ailleurs, Mc Guire et coll. (45) ainsi que Yi-Chang Fu et coll. (34) ont envisagé la solution de ce problème par le seul calcul conformationnel. Les résultats publiés par ces auteurs semblent être dans chaque cas en désaccord avec les résultats expérimentaux. Lors de notre étude sur la poly-L-méthionine nous nous sommes heurtés à ces deux sortes d'écueil, à savoir : l'insuffisance des données de rayons X ou de diffraction électronique et la difficulté d'obtenir par le calcul conformationnel un modèle "a priori" en accord avec les résultats expérimentaux.

En utilisant simultanément les deux techniques nous pensons avoir utilisé les aspects positifs de ces méthodes complémentaires et mener à bien l'étude de la structure fine d'un polypeptide à chaîne latérale longue à l'état solide.

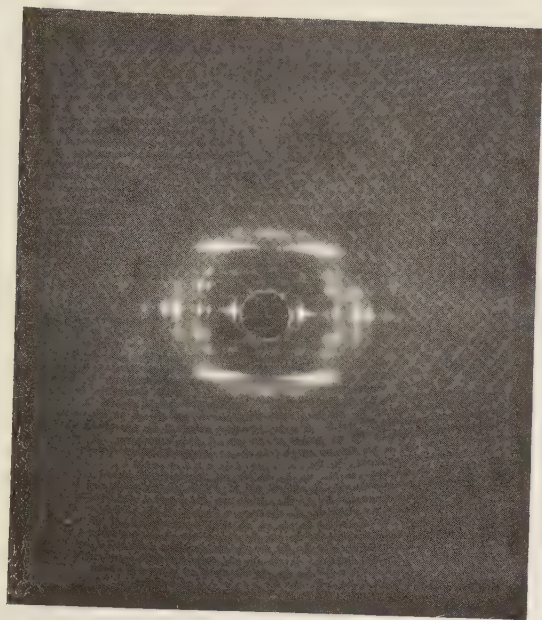


Figure 29
Fibre de poly(L-Met) verticale.
Chambre cylindrique

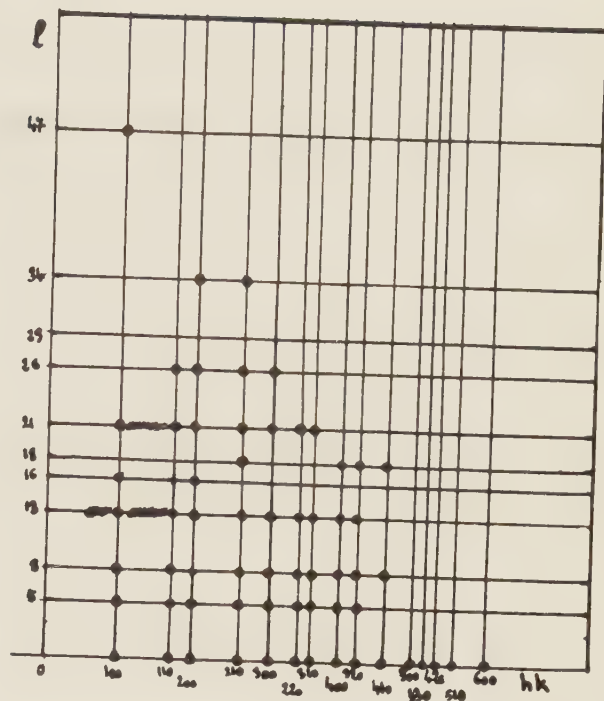


Figure 30
Réseau hexagonal de la poly(L-Met).
● réflexion de Bragg observée
— traînée

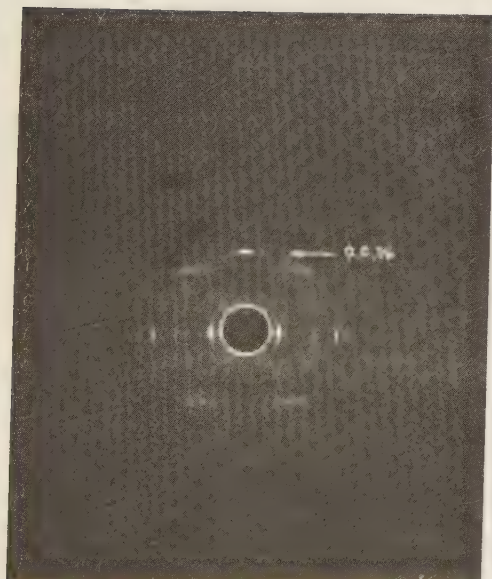


Figure 31
Fibre inclinée de 10° sur la verticale.
Chambre cylindrique

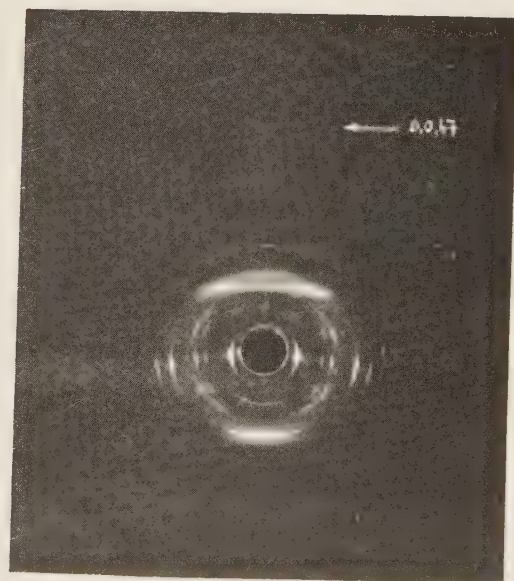


Figure 32
Fibre horizontale inclinée de 59° sur le
faisceau de rayons X. Chambre cylindrique

II. Résultats cristallographiques

II. 1) La maille

Les clichés de fibre de poly-L-méthionine obtenus par les méthodes décrites page 7, montrent 61 réflexions mesurables, dont 15 sur l'équateur, voir (figures 29, 30, 31 et 32). Ces réflexions s'indexent suivant un réseau hexagonal de paramètres $a = 11,49 \pm 0,005 \text{ \AA}$ et $c = 70,5 \pm 0,1 \text{ \AA}$. La présence de "traînées" ou zone de diffusion continue est l'indice d'un désordre sur le sens des chaînes polypeptidiques. Nous avons donc une maille statistique du type de celle décrite page 14, contenant une hélice positive superposée à une hélice négative chacune ayant un poids statistique $\frac{1}{2}$.

II. 2) La réflexion méridienne (0,0,16)

Par ailleurs, mis à part la réflexion méridienne à $1,500 \pm 0,002 \text{ \AA}$ caractéristique d'une hélice α , le cliché présente une autre réflexion méridienne à $4,40 \pm 0,01 \text{ \AA}$. Ces réflexions peuvent alors s'indexer par (0,0,47) et (0,0,16) respectivement, comme dans le cas de la poly-L-alanine (4).

La symétrie de l'hélice est donc 47/13 au lieu de 18/5. La présence anormale de la réflexion (0,0,16) est certainement due à ce que les chaînes latérales adoptent une symétrie hélicoïdale différente de celle du squelette peptidique. Cette symétrie serait ici 16/13. Le paramètre c de cette nouvelle hélice restant le même que celui de l'hélice 47/13, les systèmes de strates correspondant à leurs figures de diffraction sont identiques.

En fait, pour mieux visualiser les géométries de ces hélices, on peut très valablement approcher la symétrie 47/13 par la symétrie 18/5 (cela ne change rien à l'ordre des fonctions de Bessel sur les strates significatives, mais modifie légèrement la position de ces stra-

strate 1	symétries				strate 1'
	47/13	16/13	18/5	6/5	
0	0	0	0	0	0
5	4	-	4	-2	2
6	-	-2			
7	-	3			
8	-3	-	-3	± 3	3
9	-	-3			
13	1	1	1	1	5
16	-6	0	-6	0	6
18	5	-	5	-1	7
19	-	-1			
21	-2	-	-2	-2	8
22		-2			
26	2	2	2	2	10
34	-1	-	-1	-1	13
35	-	-1			
47	0	-	0	0	18
48	-	0			

TABLE 13

Ordre des fonctions de Bessel contribuant aux réflexions mesurables en fonction des symétries 47/13 et 16/13. La table de droite indique la correspondance avec les symétries voisines 18/5 et 6/5.

tes ; voir table 13). De même la symétrie 16/13 est très proche de la symétrie 6/5. On comprend alors l'origine de la perturbation dans l'arrangement des chaînes latérales : elles tendent à épouser la symétrie d'ordre 6 du réseau hexagonal.

Nous déduisons de ces remarques que l'unité asymétrique de l'hélice 6/5 ou (16/13) des chaînes latérales est constituée par trois chaînes latérales consécutives.

II. 3) Essai de localisation de l'atome de soufre

A partir de ces données nous avons essayé de localiser l'atome de soufre en construisant la fonction de Patterson cylindrique (44). Les pics dûs au soufre étaient malencontreusement recouverts par ceux dûs au second ordre des distances interatomiques des atomes du squelette de l'hélice α .

Nous avons également tenté de calculer la densité électronique en projection équatoriale, en donnant des signes a priori aux valeurs de F_{obs} des réflexions équatoriales. La résolution obtenue est très faible et la carte de densité des chaînes latérales se réduit à un seul pic au centre de la maille. L'information obtenue par les méthodes cristallographiques classiques est donc très médiocre et nous avons été contraints d'utiliser des méthodes de raffinement de modèles.

II. 4) Affinement de l'accord entre les intensités calculées et observées

Les valeurs des modules des facteurs de structure $|F^c|$ sont obtenues à partir d'un modèle a priori. La maille considérée est une maille statistique, occupée par deux hélices identiques de polarité différentes, décrite page 14. Ces hélices peuvent être des hélices (47/13) dont l'unité asymétrique est un résidu peptidique. Pour affiner le modèle nous pouvons aussi considérer les hélices de la maille

comme constituées d'une hélice α 47/13 dont l'unité asymétrique est limitée aux atomes $\text{NH} - \text{C}_{\alpha}^{\text{H}} - \text{C}_{\beta} - \text{C}'\text{O}$ et d'une hélice 16/13 dont l'unité asymétrique est constituée par trois chaînes latérales consécutives $(\text{H}_{\beta}^{\text{i}} - \text{C}_{\beta}^{\text{i}} - \text{H}_{\gamma}^{\text{i}} - \text{C}_{\gamma}^{\text{i}} - \text{H}_{\gamma}^{\text{i}} - \text{S}^{\text{i}} - \text{C}_{\epsilon}^{\text{i}} - \text{H}_{\epsilon}^{\text{i}} - \text{H}_{\epsilon}^{\text{i}} - \text{H}_{\epsilon}^{\text{i}} - \text{H}_{\epsilon}^{\text{i}})$, $i = 1,3$) de conformations différentes, ainsi que nous le proposons au paragraphe II. 2.

L'expression théorique de $|F^{\text{C}}|$ est donnée dans ce cas par l'expression [9] de la page 17. Les paramètres utilisés pour définir les atomes de cette maille sont au nombre de 15 dans le cas d'une hélice α pure (englobant les chaînes latérales) et de 21 dans le cas de la double symétrie hélicoïdale :

- $\varphi, \psi, \omega, \tau$ pour définir le squelette peptidique
- χ_i , $i = 1,4$ pour définir la chaîne latérale
- (ou χ_i^j ; $i = 1,4$, $j = 1,3$, pour définir les 3 chaînes latérales distinctes)
- α, β, t pour définir la position des hélices entre elles et dans la maille (voir les définitions page 15)
- B_1 le facteur d'agitation thermique appliqué à tous les atomes,
- B_2 le facteur d'agitation thermique supplémentaire appliqué aux seules chaînes latérales.

Résultats de cet affinement

Compte tenu du nombre de paramètres, la méthode de Fletcher et Powell (26) (voir page 39) est alors appliquée à la fonction $\Phi = 1 - \rho^2$ où ρ est le facteur de corrélation défini page 18. On prend comme point de départ de l'optimisation de Φ les valeurs de χ_i correspondant aux minima de l'énergie intramoléculaire E_i de l'hélice isolée. Aucune structure intéressante n'a pu être obtenue par cette méthode, la minimisation de Φ conduisant à de nombreux points distincts

tous énergétiquement incompatibles avec l'existence du réseau hexagonal. Cet échec est dû à la pauvreté des données cristallographiques et aussi au fait, qu'en ce qui concerne le spectre de diffraction des rayons X ; l'information due aux chaînes latérales est faible relativement à celle due au squelette; la pauvreté de la fonction de Patterson l'atteste. Ceci peut s'expliquer par le nécessaire désordre affectant un nombre important de chaînes latérales impliquées dans des interactions entre hélices de même polarité ainsi que nous le montrons plus loin (page 91).

Par contre, l'énergie du réseau est très sensible à la conformation des chaînes latérales. C'est pourquoi nous avons pensé que l'analyse conformationnelle pouvait apporter le complément d'information nécessaire à la résolution de la structure.

III. Analyse conformationnelle

Un simple calcul d'analyse conformationnelle ne permet pas d'arriver à la bonne solution, c'est-à-dire de trouver un bon accord entre les intensités calculées et observées du spectre de rayons X. De tels calculs ont été entrepris sur des cristaux d'hélice ω et α de poly-aspartate de benzyle par Mc Guire et coll. (45) ainsi que par Y.C. Fu (34). Les conformations ainsi trouvées sont en désaccord avec les données de rayons X. Nous avons eu les mêmes problèmes avec la poly-L-méthionine. Les conformations obtenues par minimisation de l'énergie du réseau donnent de mauvaises valeurs de ρ . Cela tient sans doute à l'imprécision des fonctions potentielles, mais surtout à la difficulté de trouver tous les minima d'une fonction de plusieurs variables. Par contre, l'optimisation conjuguée de l'énergie du réseau et de la fonction Φ doit nécessairement présenter beaucoup moins de minima. Il doit alors être possible de trouver une structure qui soit énergétiquement correcte (donc physiquement possible) et qui soit en bon accord avec les résultats expérimentaux.

III. 1) Modèle utilisé pour le calcul énergétique

Nous voulons donc construire un modèle de réseau hexagonal d'hélices α de ce polypeptide respectant l'orientation aléatoire de ces hélices suivant l'axe $\vec{c}$ et qui soit suffisamment simple pour ne pas nécessiter des temps de calculs prohibitifs.

Considérons les interactions d'une hélice donnée avec ses 6 premières voisines. Elles sont de deux types : parallèles si l'hélice voisine est de même polarité que l'hélice donnée et antiparallèles dans le cas contraire. On peut considérer un premier modèle dans lequel chaque site du réseau hexagonal est occupé aléatoirement par une hélice positive ou une hélice négative. La répartition des interactions est elle aussi aléatoire, si bien qu'il devient impossible de concevoir l'existence d'une symétrie hélicoïdale 6/5 pour les chaînes latérales ainsi que la possibilité de corrélation en orientation des diverses hélices : les paramètres α , β et t ne sont plus définis et le cliché de diffraction doit être du même type que celui du virus de la mosaïque du tabac.

En fait, la présence d'un réseau hexagonal et d'une structure en hélice 6/5 pour les chaînes latérales implique l'existence d'un ordre local. Autrement dit, l'un des deux types d'interaction doit être plus fréquent que l'autre. De cette façon il y a en moyenne au moins deux hélices consécutives de même polarité dans l'environnement immédiat d'une hélice donnée ce qui est suffisant pour donner naissance à la réflexion (0,0,16) caractéristique de l'hélice 16/13 ou 6/5. D'autre part, en imposant localement un ordre qui lui est propre ce type d'interaction prépondérant assure une corrélation dans l'orientation des hélices entre elles, ce qui permet l'existence d'un réseau cristallin. Le type d'interactions prépondérant est donc aussi celui qui est responsable du cliché de diffraction. Le calcul montre que les interactions dipole-dipole entre hélices parallèles sont défavorables d'environ

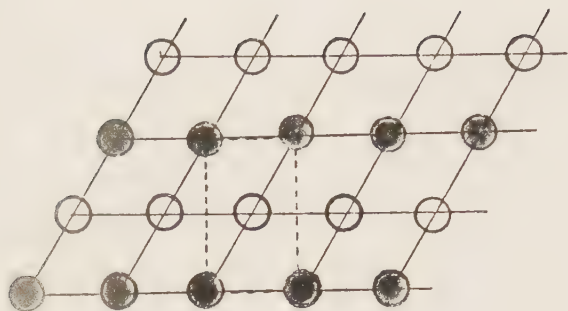


Figure 33
Modèle I

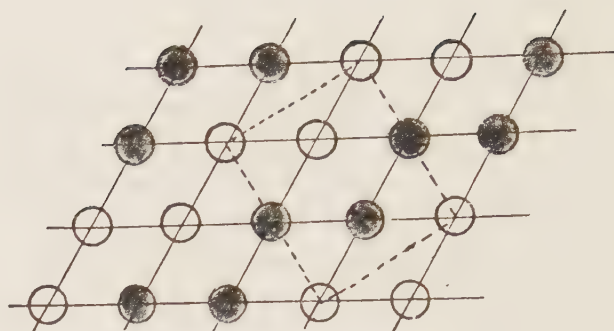


Figure 34
Modèle II

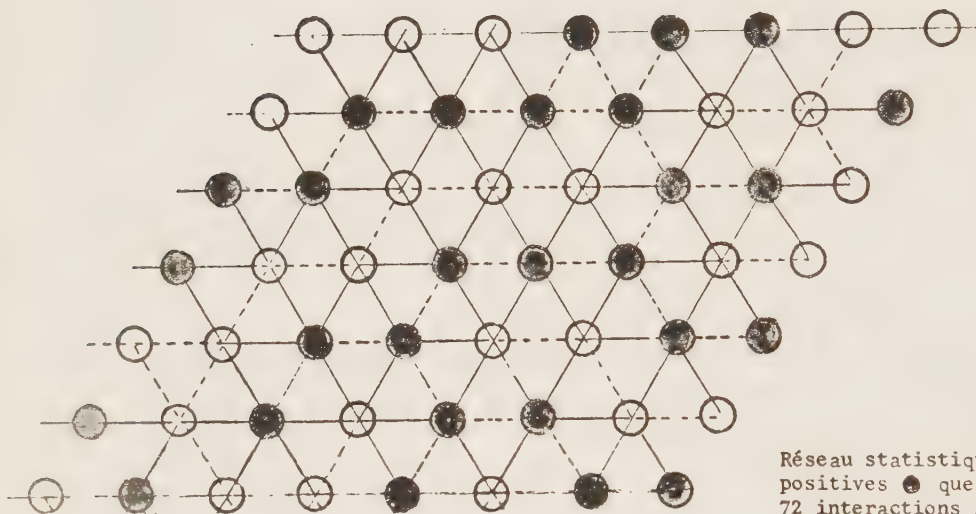


Figure 35

Réseau statistique comportant autant d'hélices positives ● que d'hélices négatives ○, mais 72 interactions antiparallèles — contre 38 parallèles - - -

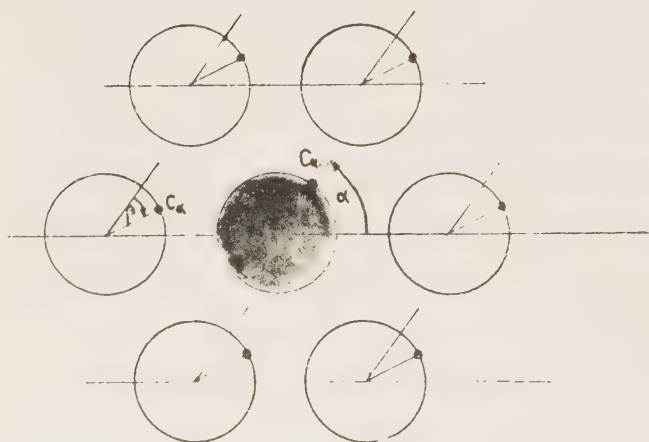


Figure 36

Arrangement utilisé pour le calcul d'énergie (hélice positive en noir, hélice négative en blanc)

10 kcal/mole-résidu par rapport à celles entre hélices antiparallèles. Arnott (4) avait déjà noté ce fait pour la poly-l-alanine. Nous bâtirons donc notre modèle en considérant que les interactions antiparallèles sont les plus fréquentes. Il est possible de construire des réseaux réguliers comportant autant de chaînes positives que de chaînes négatives, mais dans lesquels les interactions antiparallèles sont plus nombreuses que les parallèles (2 fois plus). Les modèles I et II des figures 33 et 34 en donnent deux exemples. Comme ces réseaux réguliers admettent des mailles différentes de la maille hexagonale expérimentale et sont, en plus, incompatibles avec l'existence de traînées (voir page 14) on peut admettre que le réseau réel est en fait un mélange statistique des modèles I et II donnant un réseau du type de celui de la figure 35 ; dans laquelle les interactions antiparallèles sont plus nombreuses que les parallèles mais où il y a autant d'hélices positives que d'hélices négatives. La présence nécessaire d'interactions parallèles disposées aléatoirement apporte un certain désordre dans la conformation des chaînes latérales impliquées dans ces interactions. Le réseau contient donc une assez importante "phase" amorphe qui peut expliquer l'intense halo de diffusion qui apparaît sur les clichés.

Pour effectuer notre calcul d'énergie il nous suffira donc de construire le modèle suivant : une hélice centrale entourée de six hélices de polarité inverse. Les paramètres α , β et t ayant ici le même sens qu'à la page 15 (voir figure 36). Les seules interactions que nous calculerons seront les interactions antiparallèles entre l'hélice centrale et les six autres, puisque seules ces interactions déterminent les conformations des chaînes latérales responsables du cliché de diffraction.

Nous pouvons alors entreprendre le calcul énergétique. L'énergie E du réseau se divisera en deux parties :

- l'énergie intramoléculaire de l'hélice centrale isolée E_i
- l'énergie intermoléculaire des interactions entre 3 résidus consécutifs de l'hélice centrale et les autres hélices E_R .

III. 2) Résultats du calcul énergétique

Ainsi que nous l'avons indiqué plus haut, l'optimisation de E seule est insuffisante pour déterminer la conformation responsable de l'empilement des hélices, ces calculs ont été entrepris pour des raisons de méthodes : on obtient ainsi des points de départ pour l'optimisation conjuguée de E et Φ .

Une première série de calculs est tout d'abord entreprise sur l'hélice α 47/13 isolée, donc sur E_i . Les minima d'énergie en fonction de χ_1 , χ_2 , χ_3 et χ_4 sont indiqués dans le tableau 14.

	(1)	(2)	(3)
χ_1	180°	180°	200°
χ_2	160°	40°	200°
χ_3	60°	60°	300°
χ_4	180°	120°	300°
E_i kcal/ mole résidu	- 11,38	- 10,63	- 10,25

TABLEAU 14

Principaux minima de l'énergie intramoléculaire E_i pour une hélice α de poly-L-méthionine.

A partir de ces minima, E est optimisée seule, afin d'éliminer les conformations donnant une énergie E_R trop mauvaise (chaîne latérale étendue par exemple), la symétrie hélicoïdale reste 47/13. A ce stade aucune conformation ne donne à la fois une bonne valeur de E et de Φ .

	(1)	(3)
φ	-57,0	-55,479
ψ	-48,225	-49,566
ω	180,880	180,770
τ	109,5	109,5
x_1^1	179,3	-124,3
x_2^1	152,4	177,7
x_3^1	47,6	-76,0
x_4^1	170,9	-16,4
x_1^2	153,9	-120,2
x_2^2	150,0	179,4
x_3^2	48,4	-69,2
x_4^2	172,2	-17,0
x_3^1	147,6	-119,7
x_3^2	165,2	172,1
x_3^3	57,1	-82,5
x_4^3	172,1	16,9

	(1)	(3)
α	17,1	41,9
β	154,5	203,0
t	0,0	0,16
B_1	10,0	10,6
B_2	2,0	0,4
R	0,393	0,435
Φ	0,23	0,23
ρ	0,88	0,88
E kcal/ mole résidu	-11,32	-9,70

TABEAU 15

Résultats du raffinement couplé
correspondant aux points de départ (1) et (3)
du tableau 14

III. 3) Raffinement couplé de l'énergie du cristal E et du facteur de corrélation ρ

Après cette étape il est nécessaire d'utiliser une méthode d'optimisation couplée où E et ρ sont optimisés simultanément. On utilise à cet effet la méthode de minimisation de Haaroff et Buys (35) décrite page 39. L'énergie E est alors considérée comme la fonction à minimiser avec la contrainte $\phi \leq \sigma$ (σ est un nombre positif donné à l'avance). Une série d'optimisation avec contrainte est alors entreprise dans laquelle σ est progressivement diminué de 0,5 à 0,20 ce qui correspond à des valeurs de ρ allant de 0,7 à 0,9.

Ce procédé est appliqué tout d'abord en n'utilisant que la symétrie 47/13 puis en introduisant la symétrie 16/13 pour aller plus loin dans l'optimisation.

Dès que nous passons de la symétrie 47/13 à la symétrie 16/13 pour les chaînes latérales nous obtenons une nette amélioration de ρ (0,80 à 0,84 dans l'un des cas), ce qui montre bien leur indépendance conformationnelle par rapport au squelette peptidique. De même le fait qu'en donnant à B_2 , le facteur d'agitation thermique propre aux chaînes latérales, une valeur différente de zéro on améliore un peu ρ justifie notre hypothèse d'un désordre dans la conformation de certaines chaînes latérales (phase amorphe) dont l'effet est de diminuer la contribution relative des chaînes latérales du cliché de diffraction.

Le calcul est arrêté pour une conformation donnée, lorsqu'une diminution ultérieure de σ (donc de ϕ) entraîne une augmentation de E.

La plupart des conformations de départ sont assez rapidement éliminées par cette méthode. Deux conformations seulement subsistent ; elles sont données dans le tableau 15.

Elles donnent toutes les deux une même corrélation ($\rho = 0,88$) avec les données de rayons X. En fait, la première structure (colonne 1 du tableau) rend mieux compte de certains aspects du cliché de diffraction comme la faible valeur de la réflexion (1,0,13), de plus c'est la

		résidu 1			résidu 2			résidu 3		
		r Å	φ_{deg}	z Å	r Å	φ_{deg}	z Å	r Å	φ_{deg}	z Å
squelette peptidique	N	1,53	-11,11	-0,87	1,53	88,46	0,63	1,53	-171,96	2,13
	H	1,50	- 1,57	-1,84	1,50	98,00	-0,34	1,50	-162,42	1,16
	C _α	2,29	17,10	0,0	2,29	116,67	1,50	2,29	-143,75	3,00
	H _α	3,06	3,56	0,47	3,06	103,13	1,97	3,06	-157,29	3,47
	C _β	3,26	35,37	-0,85	3,26	134,94	0,65	3,26	-125,48	2,15
	C'	1,68	43,39	1,09	1,68	43,39	2,59	1,68	-117,46	4,09
	O	1,96	37,03	2,28	1,96	37,03	3,78	1,96	-123,82	5,28
	H _β ¹	3,70	24,65	-1,62	4,01	124,15	0,21	4,07	-135,93	1,81
	H _β ²	2,97	52,82	-1,33	2,84	146,60	-0,16	2,84	-115,71	1,28
	C _γ	4,45	40,85	0,06	4,18	148,13	1,55	4,11	-110,42	3,01
	H _γ ¹	4,45	53,96	0,48	4,09	163,36	1,55	3,83	- 95,11	3,13
	H _γ ²	4,55	31,55	0,88	4,13	142,69	2,57	4,25	-116,76	4,00
	S	5,98	40,08	-0,88	5,86	145,80	0,93	5,72	-109,27	2,21
	C _ε	5,59	50,12	-2,32	5,61	149,56	-0,81	5,29	-101,51	0,63
	H _ε ¹	6,49	50,51	-2,94	6,58	149,67	-1,32	6,23	-100,33	0,05
chaîne latérale	H _ε ²	4,78	45,06	-2,91	5,02	140,81	-1,27	4,64	-109,42	0,00
	H _ε ³	5,42	60,91	-1,99	5,22	160,46	-0,90	4,92	- 90,01	0,80

TABLEAU 16

Coordonnées atomiques de 3 résidus
consécutifs de poly-(L-Méthionine)
correspondant à la colonne (1) de
la table 15.

h k l	$ F_{obs} ^2$	I _{cal}	h k l	$ F_{obs} ^2$	I _{cal}	h k l	$ F_{obs} ^2$	I _{cal}
1 0 0	37,15	46,75	1 0 8	0,95	1,17	2 0 18	-	0,07
1 1 0	7,20	10,59	1 1 8	3,86	1,13	2 1 18	0,13	0,09
2 0 0	19,43	5,70	2 0 8	-	0,25	3 0 18	-	-
2 1 0	39,31	18,96	2 1 8	1,04	0,56	2 2 18	-	-
3 0 0	48,04	19,32	3 0 8	0,52	1,19	3 1 18	-	-
2 2 0	6,68	3,71	2 2 8	1,02	1,80	4 0 18	0,8	0,31
3 1 0	7,44	2,34	3 1 8	1,22	1,83	3 2 18	0,57	0,62
4 0 0	1,84	2,82	4 0 8	1,15	1,50	4 1 18	0,56	0,76
3 2 0	3,5	3,36	3 2 8	0,50	0,92	1 0 21	0,37	1,33
4 1 0	0,35	1,76	4 1 8	0,27	0,57	1 1 21	1,29	0,34
5 0 0	0,12	0,07	1 0 13	0,18	0,02	2 0 21	0,84	0,63
3 3 0	0,14	0,59	1 1 13	8,89	10,81	2 1 21	1,42	1,78
4 2 0	0,71	0,80	2 0 13	4,28	3,02	3 0 21	1,61	2,32
5 1 0	0,32	0,72	2 1 13	1,10	0,87	2 2 21	1,49	2,24
6 0 0	0,77	0,10	3 0 13	1,42	1,75	3 1 21	1,12	2,01
1 0 5	0,05	0,04	2 2 13	1,07	0,04	1 0 26	-	0,18
1 1 5	3,22	0,73	3 1 13	1,38	0,71	1 1 26	0,02	1,59
2 0 5	6,08	1,40	4 0 13	1,30	3,10	2 0 26	0,11	0,90
2 1 5	2,14	3,15	3 2 13	0,40	1,22	2 1 26	0,74	0,32
3 0 5	1,12	3,33	1 0 16	0,91	0,13	3 0 26	1,08	1,06
2 2 5	0,56	2,55	1 1 16	-	0,02	1 0 34	-	0,02
3 1 5	0,32	2,21	2 0 16	0,16	0,04	1 1 34	-	0,41
4 0 5	0,57	1,32	1 0 18	-	0,00	2 0 34	0,10	0,41
3 2 5	0,35	0,72	1 1 18	-	0,02	2 1 34	0,15	0,23
						1 0 47	0,03	1,00

TABLEAU 17

Intensités calculées correspondant
aux paramètres de la colonne (1)
du tableau 15

structure de plus basse énergie. Nous proposons donc cette structure comme le modèle le plus probable de la poly-L-méthionine. Les coordonnées atomiques correspondantes sont données dans la table 16 et sont représentées en projection équatoriale dans la figure 37

IV. Conclusion

Nous avons donc pu prouver que l'hypothèse d'un arrangement en hélice α 16/13 (ou 6/5) des chaînes latérales de polypeptides en hélice α était correcte, puisqu'elle permet d'améliorer aussi bien l'accord entre les intensités calculées et expérimentales du spectre de diffraction des rayons X que l'énergie du réseau cristallin. A ce propos, la différence entre les valeurs des différents χ_1 étant assez forte, nous montrons que c'est toute la chaîne qui participe à cette perturbation de l'hélice α due à la symétrie d'ordre 6 du réseau hexagonal.

Le modèle de réseau statistique que nous proposons montre que ces structures à maille hexagonale contiennent nécessairement un important matériel amorphe qui ne pourrait cristalliser que dans un réseau à maille orthorhombique non statistique contenant deux chaînes antiparallèles (modèles I et II de la page 90). Il semble d'ailleurs que de tels systèmes réguliers existent dans les mélanges de poly-D et poly-L-glutamate de benzyl (63) ou pour les hélices ω de poly (β benzyl-L-aspartate) (7), mais n'ont jamais été observés jusqu'à présent pour des hélices α énantiomorphes.

Par ailleurs, nous avons montré qu'en optimisant simultanément l'énergie du réseau cristallin et la fonction de corrélation entre les intensités expérimentales et calculées nous évitons les écueils inhérents à chacune de ces méthodes. Nous obtenons ainsi une structure satisfaisant aussi bien à l'une qu'à l'autre condition. Ceci n'avait jusqu'à présent jamais été réalisé dans le cas de polypeptides. Nous pensons que cette méthode pourrait être utilisée pour le raffinement de molécules plus complexes comme les protéines.

CONCLUSION GENERALE

Les résultats auxquels nous sommes parvenus montrent que les calculs conformationnels empiriques permettent d'obtenir des informations originales.

C'est ainsi que ces calculs appliqués aux copolypeptides séquencés régulièrement alternés (D,L), (D-Ala-L-Ala)_n, (D-Ala-L-Val)_n et (D-Val-L-Val)_n montrent que contrairement à ce que les modèles de sphères dures laissaient prévoir, il n'y a pratiquement pas de différence de stabilité entre les hélices (LD)₃ et (LD)₄. Ceci permet de penser que la séquence de résidus valine de la Gramicidine A n'induit pas la conformation en hélice (LD)₄ proposée par Urry.

Appliquée au problème de la structure de la polyglycine I, l'analyse conformationnelle démontre sans équivoque la validité du modèle en feuillets ridés proposé par B. Lotz de préférence à celui en feuillets plissés de Atsbury. De plus, il nous a été possible de décrire les caractéristiques essentielles de cette dernière structure, qui ne comporte aucune évidence expérimentale. Ceci a pu être utilisé avec profit lors de l'étude du modèle (L-Ala-Gly)_n de la fibroïne de la soie, dans lequel la partie glycyI des feuillets adopte cette conformation. Aucune autre méthode d'analyse n'aurait permis d'obtenir ces deux résultats.

En ce qui concerne la poly-(L-alanine) en feuillets plissés β , les données des rayons X sont suffisantes pour en donner un modèle très complet. Notre étude n'a donc pas fourni de résultats vraiment nouveaux.

Cependant, nous avons pu mettre en évidence certains aspects "dynamiques" de cette structure, inaccessibles aux rayons X, et qui ont été utilisés pour mieux comprendre la structure en feuillets plissés de $(L-Ala-Gly)_n$, comme, par exemple, l'effet de la rotation des chaînes sur la distance interfeuille. Par ailleurs, nous avons pu préciser qu'entre les deux structures proposées par Arnott c'est celle qui adopte la symétrie C_{222_1} qui est la plus conforme aux exigences de l'empilement moléculaire.

Ces résultats obtenus sur $(Gly)_n$ et $(L-Ala)_n$ nous ont donc permis d'élucider l'origine des distances interfeuillets "anormales" rencontrées dans $(L-Ala-Gly)_n$. Grâce à ces études "dynamiques" nous avons montré que l'orientation des chaînes sur leurs axes, différentes pour le polydipeptide et pour les homopolypeptides est responsable de cette anomalie. La modification de la répétition axiale ne jouant aucun rôle dans ce phénomène contrairement à l'hypothèse de Fraser. Cela nous permet de confirmer la validité du modèle de Marsh et coll. pour la fibroïne de la soie du Bombyx Mori et pour le copolypeptide modèle correspondant.

Par ces mêmes méthodes, nous avons pu confirmer le modèle en "vilbrequin" ou en feuillets parallèles " β contracté" de $(L-Ala-Gly)_{nII}$. L'analyse des résultats montre bien que ces feuillets, plus stables à l'état isolé que les feuillets plissés, forment des empilements plus instables que cette dernière structure ; ceci est bien confirmé par l'expérience.

Ces études sur les formes cristallines de $(L-Ala-Gly)_n$ permettent en outre de souligner l'intérêt de l'étude des polypeptides synthétiques comme modèles des protéines fibreuses. En effet, leur composition chimique simplifiée permet de les traiter par l'analyse conformationnelle sans faire d'approximation sur leur structure. Les grandeurs calculées peuvent alors être comparées sans hypothèses supplémentaires aux résultats expérimentaux obtenus sur ces mêmes échantillons. Ceci permet une analyse bien plus détaillée des faits majeurs de la structure des protéines fibreuses que ne l'aurait permis une étude directe sur ces mêmes protéines de médiocre cristallinité.

Enfin, le dernier exemple présenté nous a permis de montrer le rôle irremplaçable de l'analyse conformationnelle pour le raffinement d'une structure dont les données expérimentales (rayons X) sont insuffisantes. Nous avons montré qu'en utilisant une méthode de co-raffinement où l'énergie conformationnelle est minimisée en utilisant comme contrainte une fonction d'accord entre les spectres de rayons X calculé et observé on peut déterminer la structure fine des chaînes latérales longues de polypeptides en hélice α à l'état de fibres cristallines.

Les calculs conformationnels empiriques, même dans leur état actuel de précision, se révèlent donc être un complément irremplaçable pour l'étude cristallographique des polypeptides.

Cependant, leur application à l'un des problèmes majeurs de la biologie moléculaire, à savoir, la détermination de la structure tertiaire des protéines globulaires à partir de la structure primaire, se heurte à des grandes difficultés. L'étude conformationnelle de ces systèmes macromoléculaires, comportant un grand nombre de paramètres variables, est en effet limitée par la capacité des ordinateurs actuels et les problèmes de recherche d'optimum d'une fonction à plusieurs variables.

Il n'en reste pas moins vrai que toute approche même limitée de ce problème contribue à mieux définir les facteurs prépondérants responsables de la structure des protéines globulaires.

ANNEXES

ANNEXE 1

RELATIONS DE SUGETA ET MIYAZAWA (64)

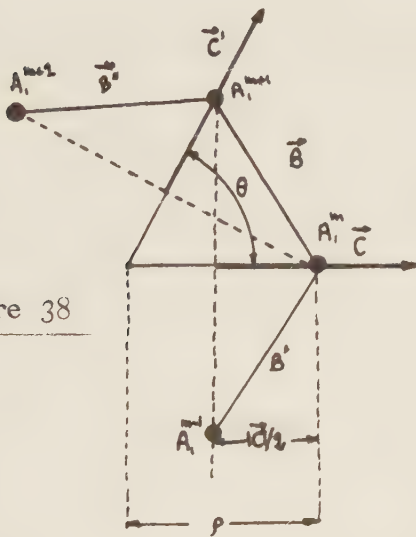


Figure 38

Soit une hélice de polymère de rotation par unité θ et de translation axiale par unité h . Nous avons représenté dans la figure 38 les atomes A_1 (par exemple C_α) des unités répétitives $m-1, m, m+1, m+2$ de l'hélice.

Nous supposons que les coordonnées de ces atomes sont connues dans un système d'axe arbitraire.

Ce sont des fonctions des variables φ, ψ que nous recherchons. Nous noterons ces coordonnées $\vec{x}(A_1)$.

On peut écrire alors :

$$\vec{B} = \vec{x}(A_1^{m+1}) - \vec{x}(A_1^m)$$

$$\vec{B}' = \vec{x}(A_1^m) - \vec{x}(A_1^{m-1})$$

$$\vec{B}'' = \vec{x}(A_1^{m+2}) - \vec{x}(A_1^{m+1})$$

et

$$\vec{C} = \vec{B}' - \vec{B}$$

$$\vec{C}' = \vec{B} - \vec{B}''$$

On a les quatre relations :

$$\cos \theta = \frac{\vec{C} \cdot \vec{C}'}{|\vec{C}| |\vec{C}'|} \quad [1]$$

$$\rho(1 - \cos \theta) = \frac{(\sqrt{\vec{C} \cdot \vec{C}'})}{2} \quad [2]$$

$$h^2 + 2 \rho^2 (1 - \cos \theta) = \vec{B} \cdot \vec{B} \quad [3]$$

$$h \sin \theta = \vec{B} \cdot (\vec{C} \wedge \vec{C}') / |\vec{C}| |\vec{C}'| \quad [4]$$

ρ est le rayon de l'hélice des atomes A_1^m , de [1] et [3] on tire en éliminant ρ :

$$\vec{B} \cdot \vec{B} = h^2 + \vec{C} \cdot \vec{C}' / [2(1 - \cos \theta)] \quad [3']$$

Soient alors $F_1(\varphi, \psi)$ et $F_2(\varphi, \psi)$ les fonctions suivantes :

$$F_1(\varphi, \psi) = \vec{C} \cdot \vec{C}' / |\vec{C}| |\vec{C}'| - \cos \theta$$

$$F_2(\varphi, \psi) = \vec{B} \cdot \vec{B} - h^2 - \vec{C} \cdot \vec{C}' / [2(1 - \cos \theta)]$$

Les φ, ψ que nous cherchons sont donc les solutions du système d'équations :

$$[5] \begin{cases} F_1(\varphi, \psi) = 0 \\ F_2(\varphi, \psi) = 0 \end{cases}$$

METHODE DE NEWTON

De telles équations se résolvent facilement par la méthode de Newton :

Soient φ_n et ψ_n deux solutions approchées de [5]. On cherche $\Delta\varphi$ et $\Delta\psi$ tels que :

$$[6] \begin{cases} F_1(\varphi_n + \Delta\varphi, \psi_n + \Delta\psi) = F_1(\varphi_n, \psi_n) + \Delta\varphi \left(\frac{\partial F_1}{\partial \varphi} \right)_{\varphi_n} + \Delta\psi \left(\frac{\partial F_1}{\partial \psi} \right)_{\psi_n} = 0 \\ F_2(\varphi_n + \Delta\varphi, \psi_n + \Delta\psi) = F_2(\varphi_n, \psi_n) + \Delta\varphi \left(\frac{\partial F_2}{\partial \varphi} \right)_{\varphi_n} + \Delta\psi \left(\frac{\partial F_2}{\partial \psi} \right)_{\psi_n} = 0 \end{cases}$$

En posant $\vec{\xi}_n = \begin{bmatrix} \varphi_n \\ \psi_n \end{bmatrix}$, $\vec{F}_n = \begin{bmatrix} F_1(\varphi_n, \psi_n) \\ F_2(\varphi_n, \psi_n) \end{bmatrix}$, $\vec{\Delta} = \begin{bmatrix} \Delta\varphi \\ \Delta\psi \end{bmatrix}$ et si M est la matrice

Jacobienne de F_1 et F_2 on peut écrire [6] sous la forme :

$$\vec{F}_n + M \cdot \vec{\Delta} = \vec{0}$$

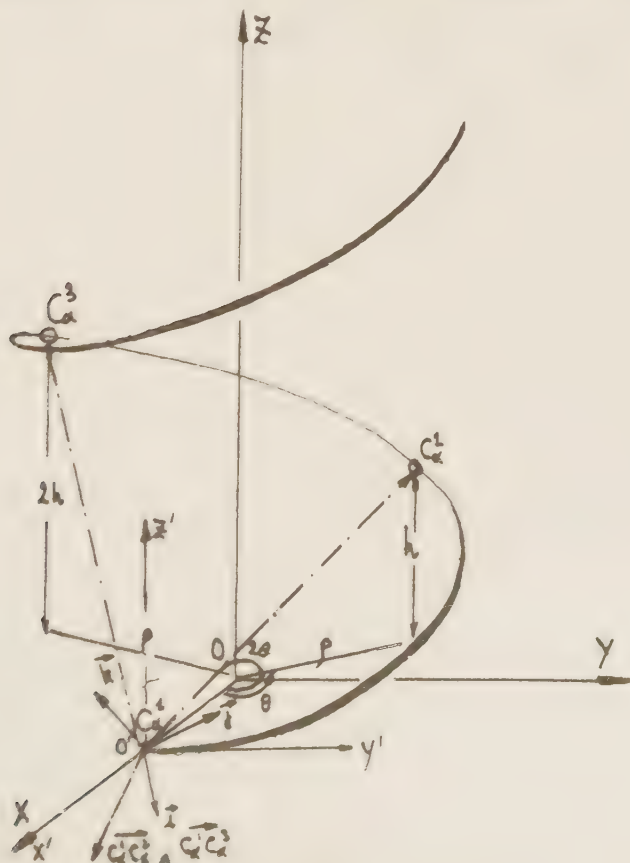
soit :

$$\vec{\Delta} = -M^{-1} \cdot \vec{F}_n$$

il suffit de réitérer en posant $\vec{\xi}_{n+1} = \vec{\xi}_n + \vec{\Delta}$, jusqu'à ce que $|\vec{F}_n|$ soit aussi petit que l'on veut.

EXPRESSION DES COORDONNEES DES ATOMES D'UNE HELICE DANS SON SYSTEME D'AXE PROPRE

Soit une hélice définie par les paramètres $\underline{h}$ et $\underline{\varrho}$, les coordonnées $(\vec{x}_k)$ d'un atome k sont données par le programme de construction dans un repère cartésien arbitraire $(\vec{i}, \vec{j}, \vec{k})$, centré sur le premier C_α de la chaîne.



Considérons les premiers C_α des 2ème et 3ème unités répétitives de l'hélice : C_α^2 et C_α^3 .

Soit $[U]$ la matrice dont les colonnes sont les coordonnées des vecteurs $\overrightarrow{C_\alpha^1 C_\alpha^2}$, $\overrightarrow{C_\alpha^1 C_\alpha^3}$ et $\overrightarrow{C_\alpha^1 C_{\alpha 1}^2 C_\alpha^3}$ exprimées dans le système $(\overrightarrow{O'X'}, \overrightarrow{O'Y'}, \overrightarrow{O'Z'})$ propre à l'hélice et centré, en $C_{\alpha 1}$, on a :

$$U = \begin{bmatrix} \rho(\cos \theta - 1) & \rho(\cos 2\theta - 1) & 2h\rho \sin \theta (1 - \cos \theta) \\ \rho \sin \theta & \rho \sin 2\theta & 2h\rho \cos \theta (\cos \theta - 1) \\ h & 2h & \rho^2 \sin 2\theta (1 - \cos \theta) \end{bmatrix}$$

Soit $[U]$ la matrice correspondante dans le système $(\overrightarrow{i}, \overrightarrow{j}, \overrightarrow{k})$, si $[T]$ est la matrice de passage entre les deux système on a :

$$[U] = [T] [u]$$

$$\text{soit } [T] = [U] \cdot [u]^{-1}$$

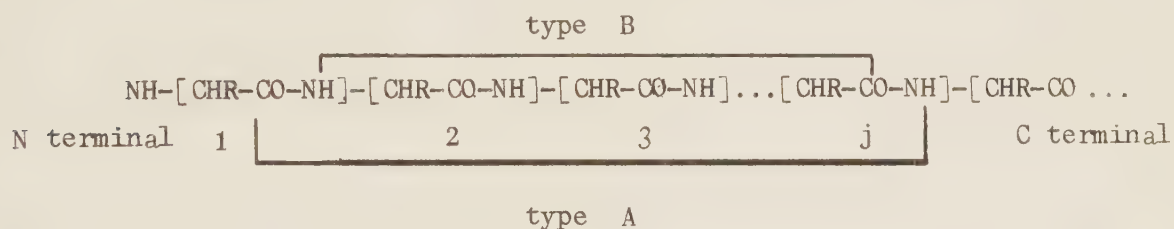
Les coordonnées d'un atome k s'expriment alors dans le système de l'hélice par :

$$\boxed{\overrightarrow{X}_k = [T] \cdot \overrightarrow{x}_k + \begin{bmatrix} \rho \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}}$$

A N N E X E 2

Dans cette annexe nous donnons la définition des hélices α , π et LD qui comportent des liaisons hydrogènes intramoléculaires. Ces liaisons déterminent des contours fermés, appelés cycles. Le nombre d'atomes compris dans ces cycles définit l'hélice.

Soit une chaîne polypeptidique dont les unités sont numérotées de 1 à n dans le sens N terminal vers C terminal (schéma ci-dessous).



Entre les unités 1 et j nous pouvons former les deux types suivants de liaison hydrogène :

type A noté $j \rightarrow 1$ liaison hydrogène entre le NH de l'unité j
et le CO de l'unité 1

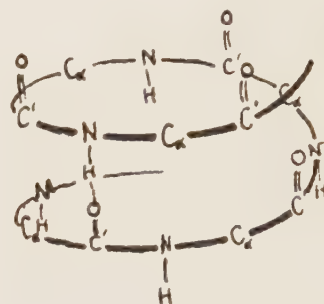
type B noté $1 \rightarrow j$ liaison hydrogène entre le NH de l'unité 1
et le CO de l'unité j.

Les liaisons du type A forment donc, entre les unités 1 et j, des cycles à $3j + 1$ atomes et les liaisons du type B des cycles à $3j - 1$ atomes. En formant systématiquement tous les cycles, on peut construire une série d'hélices définies par le symbole n_1 où n est le nombre d'unités par tour

de l'hélice et l le nombre d'atomes contenus dans un cycle. On a ainsi, par exemple :

- i) hélices construites à partir d'unités de même signe optique :
les groupements CO ou NH sont de même sens.

hélice	α	π_{16}	π_{14}
symbole	$4 \rightarrow 1$	$5 \rightarrow 1$	$1 \rightarrow 5$
n	2,6	4,4	4,3
l	13	16	14
translation axiale h	$1,5 \text{ \AA}$	$1,15 \text{ \AA}$	$1,2 \text{ \AA}$



hélice α

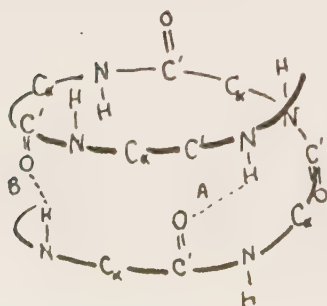
N. B. Les hélices droites ou gauches
sont construites à partir du même
cycle.

- ii) hélices (L,D), voir (57), construites à partir de séquences alternées
d'unités L et D : les groupements CO ou NH sont alternativement de
sens opposés.

Dans la même hélice il existe donc simultanément les cycles $j \rightarrow 1$ et $1 \rightarrow j$,
entre les unités dipeptides numérotés de 1 et j .

On peut distinguer deux sortes d'hélices :

- α) les hélices droites définies par le symbole $(LD)_{jp}$:
elles comportent les liaisons hydrogènes suivantes :



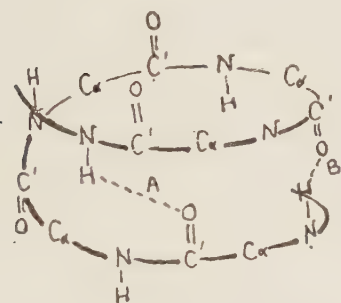
$L_1 \rightarrow L_j$ (type B entre unités L) cycle $(6j - 4)$

$D_k \rightarrow D_1$ (type A entre unités D) cycle $(6j - 2)$

On a ainsi :

	$(LD)_{2P}$	LD_{3P}	LD_{4P}	LD_{5P}
$L_1 \rightarrow L_j$	$1 \rightarrow 2$ (8)	$1 \rightarrow 3$ (14)	$1 \rightarrow 4$ (20)	$1 \rightarrow 5$ (26)
$D_j \rightarrow D_1$	$2 \rightarrow 1$ (10)	$3 \rightarrow 1$ (16)	$4 \rightarrow 1$ (22)	$5 \rightarrow 1$ (28)
n^*	2,17	2,28	3,14	4,11
h^*	4,24	2,41	1,56	1,19

β) les hélices gauches définies par le symbole $(LD)_{jM}$:
elles comportent les liaisons hydrogènes suivantes :



$L_j \rightarrow L_1$ (type A) cycle $(6j - 2)$
 $D_1 \rightarrow D_j$ (type B) cycle $(6j - 4)$

On a le tableau inverse du tableau précédent :

	$(LD)_{2M}$	$(LD)_{3M}$	$(LD)_{4M}$	$(LD)_{5M}$
$L_j \rightarrow L_1$	$2 \rightarrow 1$ (10)	$3 \rightarrow 1$ (16)	$4 \rightarrow 1$ (22)	$5 \rightarrow 1$ (28)
$D_1 \rightarrow D_j$	$1 \rightarrow 2$ (8)	$1 \rightarrow 3$ (14)	$1 \rightarrow 4$ (20)	$1 \rightarrow 5$ (26)
n^*	2,17	2,28	3,14	4,11
h^*	4,24	2,41	1,56	1,19

* valeurs approximatives calculées par Ramachandran (57).

B I B L I O G R A P H I E

- (1) ABADIE J. (1969) dans "Optimization" édité par R. Fletcher,
Academic Press, Londres.
- (2) ARNOTT S. (1965), Polymer, 6, 478.
- (3) ARNOTT S. et WONACOTT A.J. (1966), Polymer, 7, 157.
- (4) ARNOTT S. et WONACOTT A.J. (1966), J. Mol. Biol., 21, 371.
- (5) ARNOTT S., DOVER S.D. et ELLIOTT A. (1967), J. Mol. Biol., 30, 201.
- (6) ATSBURY W.D. (1949), Nature (Londres), 163, 722.
- (7) BALDWIN J.P., BRADBURY E.M., Mac LUCKIE I.F. et STEPHENS R.M. (1973),
Macromolecules, 6, 83.
- (8) BAMFORD C.H., BROWN L., ELLIOTT A., HANBY W.E. et TROTTER I.F. (1953),
Proc. Roy. Soc., B141, 49.
- (9)¹ BAMFORD C.H., ELLIOTT A., HANBY W.E. (1956) dans "Synthetic polypeptides",
p. 263, Academic Press, New-York.
- (10) BAMFORD C.H., ELLIOTT A., HANBY W.E. (1956) dans "Synthetic polypeptides",
p. 237 et p. 275, Academic Press, New-York.
- (11) BIRKTOFF J.J. et BLOW D.M. (1972), J. Mol. Biol., 68, 187.
- (12) BLOOM S.M., FASMAN G.D., de LOZE C. et BLOUT E.R. (1962), J.A.C.S.,
84, 458.
- (13) BRADBURY E.M. et coll. (1960), J. Mol. Biol., 2, 276.
- (14) BRADBURY E.M., BROWN L., ELLIOTT A., PARRY D.A.D. (1965), Polymer,
6, 405.

- (15) BRANT D.A., MILLER W.G. et FLORY P. (1967), J. Mol. Biol. 23, 47.
- (16) BROWN L. et TROTTER I.F. (1956), Trans. Farad. Soc., 52, 537.
- (17) CAILLET J. et CLAVERIE P. (1974), Biopolymers, 13, 601.
- (18) COCHRAN W., CRICK F.H.C. et VAND V. (1952), Acta Cryst., 5, 581.
- (19) COLONNA-CESARI F., PREMILAT S. et LOTZ B. (1974), J. M. Biol. 87, 181.
- (20) DAVIDON W.C. (1959) A.E.C. Research and Development Report, ANL-59990.
- (21) DEL RE G. (1963) dans "Electronics Aspects of Biochemistry" p. 221,
Academic Press, New-York.
- (22) ELLIOTT A. et MALCOLM B.R. (1959), Proc. Roy. Soc., A249, 30.
- (23) ELLIOTT A., FRASER R.D.B. et Mac RAE T.P. (1965), J. Mol. Biol.,
11, 821.
- (24) ELLIOTT A. (1967) dans "Poly- α -amino-acids" (G.D. Fasman éditeur) p. 1
Dekker, New-York.
- (25) ELLIOTT A. (1969) dans "Infra-red Spectra and Structure of Organic
Long-Chain Polymers", Arnold, Londres.
- (26) FLETCHER R. et POWELL M.J.D. (1963), Comp. J., 6, 163.
- (27) FRASER R.D.B. et coll. (1965), J. Mol. Biol., 11, 706.
- (28) FRASER R.D.B. et coll. (1966), J. Mol. Biol., 19, 580.
- (29) FRASER R.D.B. et Mac RAE T.P. (1973) dans "Conformation in Fibrous
Proteins", Academic Press, New-York, p. 47.
- (30) FRASER R.D.B. et Mac RAE T.P. (1973) dans "Conformation in Fibrous
Proteins", Academic Press, New-York, p. 153.
- (31) FRASER R.D.B. et Mac RAE T.P. (1973) dans "Conformation in Fibrous
Proteins", Academic Press, New-York, p. 244.
- (32) FRASER R.D.B. et Mac RAE T.P. (1973) dans "Conformation in Fibrous
Proteins", Academic Press, New-York, p. 305
et suivantes.
- (33) FRASER R.D.B. et Mac RAE T.P. (1973) dans "Conformation in Fibrous
Proteins", Academic Press, New-York, p. 312.
- (34) FU YI-Ch., Mac GUIRE R.F. et SCHERAGA H.A. (1974), Macromolecules,
7, 468.

- (35) HAAROFF P.C. et BUYS J.D. (1970), *Comp. J.*, 13, 178.
- (36) HERMANS J. Jr. et FERRO D. (1971), *Biopolymers*, 10, 1121.
- (37) HESSELINK F.T. et SCHERAGA H.A. (1972), *Macromolecules*, 5, 455.
- (38) HOLMES K.C. (1959), Thèse, Londres.
- (39) KRATKY O., SCHAUENSTEIN E. et SEKORA A. (1950), *Nature*, 165, 319.
- (40) LANGRIDGE R. et coll. (1960), *J. Mol. Biol.*, 2, 19.
- (41) LOTZ B. et KEITH H.D. (1971), *J. Mol. Biol.*, 61, 201.
- (42) LOTZ B. (1974), *J. Mol. Biol.*, 87, 169.
- (43) LOTZ B., BRACK et SPACH G. (1974), *J. Mol. Biol.*, 87, 193.
- (44) Mac GILLAVRY C.H. et BRUINS E.M., (1948), *Acta Cryst.*, 1, 156.
- (45) Mac GUIRE R.F. et coll. (1971), *Macromolecules*, 4, 112.
- (46) MALCOLM B.R. (1968), *Proc. Roy. Soc.*, A305, 363.
- (47) MARSH R.E., COREY R.B. et PAULING L. (1955), *B.B.A.*, 16, 1.
- (48) NELDER J.A. et MEAD R. (1965), *Comp. J.*, 7, 308.
- (49) PARRY D.A.D. et SUZUKI E., (1969), *Biopolymers*, 7, 189.
- (50) PAULING G.L. et COREY R.B. (1951), *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.*,
37, 729.
- (51) PAULING L. et COREY R.B. (1953), *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.*;
39, 253.
- (52) PAULING L. et COREY R.B. (1953), *Proc. Roy. Soc.*, B141, 21.
- (53) POLAND D. et SCHERAGA H.A. (1967), *Biochemistry*, 6, 3791.
- (54) POWELL M.J.D. (1964), *Comp. J.*, 7, 155.
- (55) POWELL M.J.D. (1969), dans "Optimization" édité par R. Fletcher,
Academic Press, Londres, p. 283.
- (56) PULLMAN B. (1971), *Int. J. of Quantum Chem., Symp.* n° 4, p. 319.
- (57) RAMACHANDRAN G.N. et CHANDRASEKARAN (1972), *Indian J. of Biochem. and
Biophys.*, p. 1.



